

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

**COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro*
DEL ACEITE ESENCIAL DE *Syzygium aromaticum* FRENTE
A SULFAMETOXAZOL/TRIMETOPRIMA
EN RELACIÓN CON *Escherichia coli*
ATCC 25922**

TESIS

Presentada por:

Bach. Mary Yesenia Pari Paccari

Para optar el Título Profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

TACNA – PERÚ

2023

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

**COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DEL
ACEITE ESENCIAL DE *Syzygium aromaticum* FRENTE A
SULFAMETOXAZOL /TRIMETOPRIMA EN RELACIÓN
CON *Escherichia coli* ATCC 25922**

TESIS

Presentada por:

Bach. MARY YESENIA PARI PACCARI

Para optar el Título Profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

Aprobada por UNANIMIDAD, ante el siguiente jurado



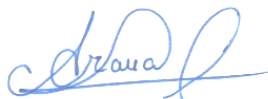
Mgr. Juan Carlos Efraín Cervantes Zegarra
Presidente



Dr. Juan José Evaristo Changllo Roas
Miembro



Mgr. Lourdes Adriana Luque Ramos
Miembro



Mgr. Lourdes Yolanda Arana Pari
Asesora

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, **LOURDES YOLANDA ARANA PARI** en mi condición de asesor acreditado por la Resolución de Facultad N° **11719-2022-FACS-UNJBG**, de la tesis de investigación titulada: **COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DEL ACEITE ESENCIAL DE *Syzygium aromaticum* FRENTE A SULFAMETOXAZOL/TRIMETOPRIMA EN RELACIÓN CON *Escherichia coli* ATCC 25922.**

Presentado por la bachiller: **MARY YESENIA PARI PACCARI** para optar el título profesional de **QUÍMICO FARMACÉUTICO**.

Habiendo cumplido con lo establecido en el reglamento de originalidad y de similitud de trabajos de investigación y producción intelectual, considerando que según la revisión, evaluación y análisis realizado a través del software de similitud textual **TURNITIN**, cuenta con el nivel de similitud permitido cuyo porcentaje es de **8%**.

Por lo que **CERTIFICO LA SIMILARIDAD** de la tesis enunciada líneas arriba, la cual está expedita para continuar con los trámites para la obtención del Título Profesional de Químico Farmacéutico, según corresponda consiguientemente la publicación en el repositorio institucional.



Mgr. LOURDES YOLANDA ARANA PARI

DNI: 42001967



Bach. MARY YESENIA PARI PACCARI

DNI: 45624748



DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación está dedicado a Dios, por haberme dado salud, sabiduría, entendimiento y las fuerzas necesarias para afrontar las dificultades y poder lograr la culminación de mi investigación.

A mis padres, Marcos y Rufina por ser mi principal motivación y fortaleza, quienes, gracias a su amor constante, su sacrificio, comprensión, aliento y confianza me brindaron todo su apoyo para así lograr mi meta.

A mis hermanos Edison y Yuri, por estar en cada paso importante en mi vida, en especial a mi hermano David por su amor, su paciencia y ser mi motivación cada día y quien estuvo cuando todo se veía cuesta abajo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por ser mi sostén y fortaleza en los momentos de dificultad y desanimo ya que me mostró a las personas adecuadas para seguir adelante con el proyecto.

A mi asesora de tesis, Mgr. Lourdes Yolanda Arana Pari, por brindarme su amistad y apoyo en la realización del presente trabajo.

Al Dr. Juan José Changllo Roas por sus enseñanzas, dedicación, tiempo, paciencia, comprensión y fortaleza brindado durante este proceso. por su apoyo y consejos que me permitieron aprender mucho mas que lo estudiado en el proyecto.

A mi Madre y hermano David por alentarme constantemente y consejos brindados para seguir adelante en la ejecución del proyecto.

Al Prof. Edwin Obando, por facilitarme el laboratorio de la FACL, en la extracción del aceite esencial y proporcionarme la cepa de Escherichia coli.

A mi familia, por todo su apoyo constante e incondicional ya que son el motor y motivo para seguir creciendo como persona y profesionalmente.

CONTENIDO

DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
CONTENIDO	vi
ÍNDICE DE TABLAS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE ANEXOS.....	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.....	4
1.1. Descripción del problema.....	4
1.2. Formulación del problema.....	8
1.2.1. Problema principal.....	8
1.2.2. Problemas secundarios.....	8
1.3. Justificación e importancia de la investigación.....	9
1.4. Alcances y limitaciones.....	10

1.4.1. Alcances.....	10
1.4.2. Limitaciones	10
1.5. Objetivos	11
1.5.1. Objetivo general	11
1.5.2. Objetivos específicos	11
1.6. Hipótesis	12
1.6.1. Hipótesis General.....	12
1.6.2. Hipótesis específicas.....	12
1.7. Variables	13
1.7.1. Variable 1	13
1.7.2. Variable 2	13
1.7.3. Variable 3	13
1.7.4. Operacionalización de las variables	14
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	16
2.1. Antecedentes del estudio	16
2.1.1. Antecedentes Internacionales	16
2.1.2. Antecedentes Nacionales.....	23
2.1.3. Antecedentes Locales	29

2.2.	Bases Teóricas.....	29
2.2.1.	<i>Syzygium aromaticum</i> (clavo de olor)	29
2.2.1.1.	Aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> (clavo de olor)	31
2.2.2.	<i>Escherichia coli</i>	33
2.2.3.	Fármaco patrón: Sulfametoxazol/Trimetoprima	35
2.3.	Definición de términos.....	38
CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO		40
3.1.	Tipo y diseño de la investigación	40
3.1.1.	Tipo de investigación.....	40
3.1.2.	Diseño de Investigación	40
3.1.3.	Nivel de Investigación	41
3.2.	Población y muestra.....	41
3.2.1.	Población	41
3.2.2.	Muestra	41
3.3.	Métodos, técnicas e instrumentos para la recolección de datos	42
3.3.1.	Obtención y preparación de la muestra (Técnica de Duraffourd, y col 1983).....	42
3.3.2.	Extracción por arrastre de vapor y rendimiento del aceite esencial <i>Syzygium aromaticum</i> (Técnica de Huamán y col	

1993).....	43
3.3.3. Preparación del inóculo (Técnica de Paula y Martins, 2000) .	46
3.3.4. Determinación del efecto antibacteriano (Técnica Duraffourd y col, 1983)	46
3.3.5. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) (Técnica de Granados y Villaverde, 1997)	47
3.3.6. Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) (Choquehuanca, 2004)	48
3.4. Materiales y/o instrumentos.....	48
3.4.1. Equipos	48
3.4.2. Materiales de vidrio	49
3.4.3. Medios de cultivo	50
3.4.4. Otros materiales.....	50
3.5. Procesamiento de datos.....	51
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	52
DISCUSIÓN	80
CONCLUSIONES	86
RECOMENDACIONES	88
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	89

ANEXOS 99

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> frente a sulfametoxazol/trimetoprima en relación con <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, por el método difusión en disco (Kirby Bauer).	52
Tabla 2.	Actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> en sus diferentes concentraciones frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, por el método de difusión en disco Kirby-Bauer.	55
Tabla 3.	Determinación del grado de sensibilidad de a diferentes concentraciones del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> , según Duraffourd.	57
Tabla 4.	Actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> de la Sulfametoxazol/Trimetoprima frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, por el método de difusión en disco Kirby-Bauer.	59
Tabla 5.	Determinación del grado de sensibilidad de Sulfametoxazol/ Trimetroprima, según Duraffourd.	60

Tabla 6.	Prueba de normalidad de Kolmogórov-Smirnov (n>50) y Shapiro -Wilk (n≤50)	62
Tabla 7.	Prueba de homocedasticidad de varianzas (Levene)	63
Tabla 8.	Diseño completamente al azar (DCA)	65
Tabla 9.	Prueba de significancia de Games-Howell de la actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> frente a Sulfametoxazol/Trimetoprima en relación con <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.	66
Tabla 10.	Diseño completamente al azar (DCA)	70
Tabla 11.	Prueba de significancia de Games-Howell de la actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> en relación con <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.	71
Tabla 12.	Prueba de normalidad de Kolmogórov-Smirnov (n>50) y Shapiro -Wilk (n≤50)	75
Tabla 13.	Prueba de hipótesis para diferencia de medias poblacionales	78

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Diagrama de Box plot y comparación entre promedios de los halos de inhibición (mm) de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a la *Escherichia coli* ATCC 25922. 54
- Figura 2. Distribución del promedio de los halos de inhibición en base a las concentraciones del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a la *Escherichia coli* ATCC 25922. 69
- Figura 3. Distribución del promedio de los halos de inhibición en base a las concentraciones del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a la *Escherichia coli* ATCC 25922. 74

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Matriz de consistencia	100
ANEXO 2. Instrumento.....	101
ANEXO 3. Identificación de la especie Botánica.....	102
ANEXO 4. Cromatografía de Gases del Aceite esencial de <i>Syzygium</i> <i>aromaticum</i>	1033
ANEXO 5. Cromatografía en Capa fina del Aceite esencial de <i>Syzygium</i> <i>aromaticum</i>	104
ANEXO 6. Antibióticos y diámetros críticos para Enterobacteria	105
ANEXO 7. Evidencias fotográficas.....	106

RESUMEN

La presente investigación compara el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a Sulfametoxazol/Trimetoprima en relación con *Escherichia coli* ATCC 25922. Fue una investigación no experimental transversal, se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia, que consta de nueve tratamientos con nueve repeticiones obteniendo un total de 81 unidades de prueba. El aceite esencial de *Syzygium aromaticum* se obtuvo mediante destilación por arrastre de vapor y para conocer el grado de sensibilidad de la actividad antimicrobiana se realizó por el Método de difusión en disco (Kirby Bauer). Los resultados obtenidos demostraron que el porcentaje de rendimiento de aceite esencial (RAE) obtenido fue de 1,8 % con una densidad de 1,0755 g/mL, el componente con mayor proporción el eugenol (70 %). Los halos de inhibición (mm) frente a la *Escherichia coli* ATCC 25922 a diferentes de concentraciones del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* indican un ligero mayor promedio en el halo de inhibición a la concentración de 32,265 mg con un promedio de 21,15 mm y en la Sulfametoxazol/Trimetoprima de 25 ug un halo de 18,96 mm. Se concluye que existe diferencia entre el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a sulfametoxazol/trimetoprima en

relación con *Escherichia coli* ATCC 25922, ya que su significancia es menor al 0,05, es decir que en el tratamiento 9 (concentración 32,265) existe una mayor actividad antibacteriana frente al Sulfametoxazol/Trimetoprima (control +).

Palabras clave: *Syzygium aromaticum*, Sulfametoxazol/Trimetoprima, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

The present investigation compares the *in vitro* antibacterial effect of the essential oil of *Syzygium aromaticum* against Sulfamethoxazole/Trimethoprim in relation to *Escherichia coli* ATCC 25922. It was a non-experimental cross-sectional investigation, non-probabilistic sampling was carried out for convenience, consisting of nine treatments with nine repetitions obtaining a total of 81 test units. The essential oil of *Syzygium aromaticum* was obtained by steam distillation and to determine the degree of sensitivity of the antimicrobial activity, it was carried out by the Disc diffusion method (Kirby Bauer). The results obtained showed that the percentage of essential oil yield (RAE) obtained was 1,8 % with a density of 1.0755 g/mL, the component with the highest proportion being eugenol (70%). The inhibition zones (mm) against *Escherichia coli* ATCC 25922 at different concentrations of the essential oil of *Syzygium aromaticum* indicate a slightly greater average in the inhibition zone at the concentration of 32,265 mg with an average of 21,15 mm and in sulfamethoxazole/trimethoprim 25 ug a halo of 18,96 mm. It is concluded that there is a difference between the *in vitro* antibacterial effect of *Syzygium aromaticum* essential oil versus Sulfamethoxazole/Trimethoprim in relation to *Escherichia coli* ATCC 25922, since its significance is less than 0,05, that

is, in treatment 9 (concentration 32,265) there is greater antibacterial activity against Sulfamethoxazole/Trimethoprim (control +).

Keywords: *Syzygium aromaticum*, Sulfamethoxazole/Trimethoprim, *Escherichia coli*.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial las enfermedades diarreicas agudas (EDA) causa sintomatologías ocupando el segundo en niños menores de 5 años y quinto lugar en mayores de 5 años, la mortalidad se da en países de bajos y medianos recursos, siendo una causa de emergencias médicas y hospitalizaciones, considerándolo como un problema de salud pública (1).

La *Escherichia coli* es una bacteria natural que se encuentra en los intestinos, pero existe un grupo que causa enfermedades infecciosas (2,3) como las EDA siendo la *E. coli* diarreogénicas, *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* productora de shiga toxina (STEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enteropatogénica (EPEC) y *E. coli* difusamente adherente (DAEC); están clasificadas por el mecanismo de virulencia, síndromes clínicos, epidemiología y antígenos O, H (2).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), en su publicación “Tratamiento de las enfermedades infecciosas 2020-2022”, menciona que la terapia con antibióticos es beneficiosa para los pacientes que presenten síntomas y signos clínicos de infección, los antibióticos sintéticos como la

Sulfametoxazol/Trimetoprima son muy utilizados para infecciones contra bacterias gram positivas y gram negativas teniendo una actividad bactericida (4).

La OMS, en el 2023, estima que el 88 % de los países del mundo utilizan practicas terapéuticas de la medicina indígena, fitoterapia, acupuntura entre otras. En América, 17 países cuentan con políticas públicas que reconocen, protegen e incluyen conocimientos fundados en la tradición ancestral en sus sistemas de salud, reconociendo que para millones de personas la primera instancia de atención sanitaria es la medicina tradicional (5).

El aceite esencial de clavo está compuesto por más de 30 sustancias, siendo el mayor el eugenol con el 50 % y el 10-40 % son el acetato de eugenilo, humuleno y cariofileno. El aceite esencial de clavo se ha utilizado desde hace años para las quemaduras y heridas, también como anestesia en odontología. En la actualidad existen evidencias que el aceite de clavo posee diversas características medicinales entre ellas las antibacterianas (6).

Bajo este contexto se pretende investigar la comparación del efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *syzygium aromaticum* frente a

Sulfametoxazol /Trimetoprima en relación con *escherichia coli* ATCC 25922.

Para lograr el objetivo trazado la presente investigación fue dividido en cinco capítulos; en el Capítulo I, se presenta el planteamiento de la investigación, capítulo II, Marco teórico, capítulo III, el marco metodológico, capítulo IV, Resultados y el Capítulo V, Discusiones y finalmente se presenta las conclusiones, recomendaciones, bibliografía y anexos.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Descripción del problema

La *Escherichia coli* es causante de 630 millones de casos de diarrea (7) y de 7,6 y 6,9 millones de muertes en el año 2016 (8). Asimismo, está vinculado con el 50 % de las infecciones del tracto urinario (ITU) intrahospitalarias y el 92 % de infecciones de este tipo en pacientes ambulatorios (9), se considera un problema de salud pública que provoca enormes gastos en todos los países (10).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) menciona que la segunda causa de muerte en niños menores de cinco años son las enfermedades diarreicas provocando un total de 525 000 muertes al año. Esto se debe a infecciones bacterianas septicémicas. A nivel mundial existen 1700 millones de casos de enfermedades diarreicas infantiles por año, estas son causadas por diversos organismos bacterianos, víricos y parásitos, siendo las más frecuentes los rotavirus y *Escherichia coli* (11).

En el Perú, según Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades-MINSA, en el año 2023, se han reportado 990 380 episodios de enfermedades diarreicas agudas (EDA), hasta la semana epidemiológica 39, de los cuales el 34,8 % son de menores de 5 años y el 65,2 % de 5 años a más. También, se ha reportado un total de 5 687 hospitalizaciones, y 76 defunciones (12).

La *E. coli* presenta distintos mecanismos de resistencia como son mutaciones cromosómicas o transferencia horizontal de material genético, mediante plásmidos, integrones y transposones. La resistencia antimicrobiana en la *E. coli* es producida por la expresión de la proteína Mar A, teniendo resistencia a fluoroquinolonas, betalactámicos, cloranfenicol, tetraciclina y ácido nalidíxico (13).

La resistencia a los antimicrobianos son un problema de salud, que conlleva a la utilización de antibióticos de última generación, siendo estos más costosos y presentan efectos adversos además no son accesibles en los países en desarrollo (14). En los últimos años existe una alarmante resistencia de los microorganismos, siendo un problema de salud pública, las cepas mutantes están ampliamente en los entornos hospitalarios (15).

La OMS, describe que la Sulfametoxazol/Trimetoprima es un antibiótico sintético que combinado potencia su acción bactericida, asimismo existe resistencia por mecanismos de adquisición de enzimas blanco resistentes mediante plásmidos conjugativos a estos antibióticos (4).

Los investigadores Ruiz-Roldán L. et al, demostraron que existe sensibilidad a antimicrobianos siendo el 64,1 % de los aislados de E. coli (159 de pollo, 57 de vacuno y 45 de cerdo), la Sulfametoxazol presentó una sensibilidad de 8 % y el resto resistente (16). Valdez Y. en su estudio demostró que el uropatógeno más frecuente en los pacientes fue Escherichia coli con un 68,2 %, siendo el sexo femenino fue más sensible a Sulfametoxazol/Trimetoprima en 100 % (2 pacientes) (17).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), en la primera cumbre mundial sobre medicina tradicional, en agosto del 2023, menciona que la medicina tradicional es un fenómeno mundial y cada vez aumentan las personas que la utilizan con autonomía y responsabilidad de su bienestar y salud. Para millones de personas, la medicina tradicional es la primera opción de mantener su salud, siendo aceptable,

accesible y asequible para toda la población (18).

Muchas investigaciones han reportado que los aceites esenciales de las plantas aromáticas como el clavo, tomillo, menta entre otros poseen antibacterianas, antivirales, anticancerígenas y antifúngicas. Sin embargo, debido a sus importantes propiedades antibacterianas y antioxidantes, el clavo se ha ganado mucha popularidad entre varias especias (6).

Cabe señalar que el aceite de *Syzygium aromaticum* tiene propiedades antisépticas y antimicrobianas, que pueden ser utilizadas para combatir *Escherichia coli* (19). Este estudio se centra en comparar la actividad antibacteriana de Sulfametoxazol/Trimetoprima con aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 como tratamiento alternativo económico y complementario. Esto sería de gran importancia para ser utilizado como alternativa al tratamiento de microorganismos sin poner en riesgo la salud de la población, ya que existen bacterias que son resistentes a la Sulfametoxazol/Trimetoprima.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema principal

¿Existe diferencia entre el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a sulfametoxazol/trimetopima en relación con *Escherichia coli* ATCC 25922?

1.2.2. Problemas secundarios

- a) ¿Cuál será la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a *Escherichia coli* ATCC 25922?
- b) ¿Cuáles serán las diferencias de la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* en sus diferentes concentraciones frente a *Escherichia coli* ATCC 25922?
- c) ¿Cuál será la actividad antibacteriana *in vitro* de la Sulfametoxazol/trimetoprima frente a *Escherichia coli* ATCC 25922?

1.3. Justificación e importancia de la investigación

Justificación teórica

Este estudio se basa en el desarrollo de sus variables el efecto antibacteriano del aceite esencial *Syzygium aromaticum* frente a *E. coli*, y la comparación con la Sulfametoxazol/Trimetoprima se desarrolla el conocimiento existente sobre el uso de los recursos naturales, para el tratamiento, curación y recuperación de infecciones bacterianas.

Justificación metodológica

La investigación se justifica porque se utilizó datos precisos y confiables, mediante la metodología Kirby Bauer utilizada para la elaboración y aplicación de las pruebas de sensibilidad que nos permitió validar la actividad antibacteriana con la medición de los halos de inhibición, demostrando su validez y confiabilidad.

Justificación social

Esta investigación nos permite plantear una alternativa terapéutica a base del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a las infecciones producidas por la *E. coli*, que combaten eficazmente las infecciones y mejoran la salud, siendo accesible y de bajo costo para la utilización de toda la población, en comparación a los antibióticos

sintéticos como la Sulfametoxazol/Trimetoprima.

1.4. Alcances y limitaciones

1.4.1. Alcances

La investigación realizada tiene alcances en el departamento de Tacna como alternativa de tratamiento con *Syzygium aromaticum* frente a infecciones con *Escherichia coli*, y servirá como antecedente teórico para futuras investigaciones.

1.4.2. Limitaciones

Las limitaciones presentadas en el desarrollo de la investigación fueron:

- ✓ Para la realización del ensayo hubo un retraso en el cronograma, porque no se disponía de laboratorios habilitados, se tuvo que esperar que habiliten los laboratorios.
- ✓ La Cromatografía de gases y Cromatografía en Capa fina del Aceite esencial de *Syzygium aromaticum*, no se pudo realizar en Tacna por falta de equipos, se realizaron en la ciudad del Cuzco.

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo general

Comparar el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a Sulfametoxazol/Trimetoprima en relación con *Escherichia coli* ATCC 25922.

1.5.2. Objetivos específicos

- a) Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.
- b) Comparar la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* en sus diferentes concentraciones frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.
- c) Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* de la Sulfametoxazol/Trimetoprima frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

1.6. Hipótesis

1.6.1. Hipótesis General

Existe diferencia entre el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a Sulfametoxazol/Trimetoprima en relación con *Escherichia coli* ATCC 25922.

1.6.2. Hipótesis específicas

- a) Existe actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.
- b) Existe diferencia de la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* en sus diferentes concentraciones frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.
- c) Presenta actividad antibacteriana *in vitro* de la Sulfametoxazol/Trimetoprima frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

1.7. Variables

1.7.1. Variable 1

Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Syzygium aromaticum*

1.7.2. Variable 2

Actividad antibacteriana de la Sulfametoxazol/Trimetoprima.

1.7.3. Variable 3

Crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* ATCC 25922

1.7.4. Operacionalización de las variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADOR	TÉCNICA DE VERIFICACIÓN	ESCALA
Variable 1: Actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i>	Es la inhibición en el crecimiento de bacterias (<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922) por parte del Aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> (clavo de olor)	Formación de halo de inhibición por parte del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> (clavo de olor).	Escala de Duraffourd	Nula (-): ≤ a 8 mm Sensible (+): 9-14 mm Muy Sensible (++) : 15-19mm S. Sensible (+++) : ≥ a 20mm	Método Kirby-Bauer (Disco difusión en agar)	Ordinal
Variable 2: Actividad antibacteriana de la Sulfametoxazol/Trimet	Inhibición del crecimiento de la bacteria (<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922) por medio de la	Formación del halo de inhibición por medio de la sulfmetoxazol/	Escala de Duraffourd	Nula (-): ≤ a 8 mm Sensible (+): 9-14 mm Muy Sensible (++) :	Método Kirby-Bauer (Disco	Ordinal

oprima.	Sulfametoxazol/ trimetoprima	trimetoprima.		15-19mm S. sensible (+++): ≥ a 20mm.	difusión en agar)	
Variable 3: Crecimiento bacteriano <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Eliminar o reducir el grupo de compuestos, Microorganismos patógenos: Bacterias, virus, hongos o parásitos. Antibiótico, desinfectante, alimentario o humano.	Activación de la cepa a 37 °C una vez pasado las 24h de la incubación presencia de colonias.	Halos de inhibición	En medio de cultivo solido	Diámetro en milímetros (mm)	Nominal
			Concentraci ón mínima inhibitoria	En medio del cultivo liquido	Turbidez	
			Concentraci ón mínima bacteriana	En medio de cultivo solido	Eliminació n del 99%	

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

2.1.1. Antecedentes Internacionales

Diyah Y. et al., en el año 2022, en Indonesia realizaron la investigación titulada “*La identificación de compuestos antibacterianos en el extracto de tallo de clavo (Syzygium aromaticum) y su eficacia para inhibir el crecimiento de Escherichia coli*” (20), tuvo la finalidad de identificar los compuestos antibacterianos y la eficacia del extracto de tallo de clavo sobre la *Escherichia coli*. Utilizaron la cromatografía de gases-masa, para identificar sus componentes (alfa-pineno, el hexilenglicol, el betha mirceno, el eucaliptol y el alfa terpineol) los cuales tienen propiedades antibacterianas. Se utilizó el método del disco de papel con el extracto de tallo de clavo en concentraciones de 30 %, 50 % y 70 % frente a *Escherichia coli*, obteniendo halos de inhibición de 12 mm, 12,7 mm y 14,1 mm, respectivamente, en comparación al control de amoxicilina

0,5 mg/ml la concentración de 70 % es equivalente son sensibles a *Escherichia coli*. Se utilizó el ANOVA, para la diferencia de grupos con un valor menor a 0,05. Concluyeron que los componentes del tallo de clavo fueron 13 de los cuales tenemos el alfa-pineno, hexilenglicol, beta micreno, eucaliotol, y el alfa terpineol con propiedades antibacterianas. El extracto metanólico de tallo de clavo posee capacidad de inhibir el crecimiento de *Escherichia coli* (20).

Prabandari A., Aprilliana M. en el año 2022, realizaron en Indonesia un estudio titulado “*Actividad antibacteriana de extractos crudos y purificados de hojas de clavo (Syzygium aromaticum) contra Escherichia coli y Staphylococcus aureus*” (21), que tiene como objetivo conocer la actividad antibacteriana del extracto de hojas de clavo frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. El estudio experimental, la extracción se realizó por método de maceración con un valor de rendimiento de 20,1 %. Los resultados nos muestran los componentes de las hojas de clavo son metabolitos secundarios (flavonoides, taninos, saponinas y alcaloides) las concentraciones del extracto de

clavo fueron de 5 %, 10 %, 15 %, 20 % y 25 % teniendo un halo de inhibición frente a *Escherichia coli* con el extracto crudo 7,30 mm; 9,99 mm; 12,92 mm; 13,27 mm; 13,93 mm y el extracto purificado es de 9,91 mm; 11,06 mm; 12,00 mm; 12,29 mm; 14,53 mm. Con el *Staphylococcus aureus* a concentraciones del 5%, 10%, 15%, 20% y 25% es de 6,71 mm; 7,50 mm; 7,65 mm; 8,25 mm; 9,32 mm y purificado es 7,47 mm; 8,68 mm; 9,54 mm; 9,97 mm; 11,37 mm. Siendo la concentración de extracto purificado al 25 % mejor contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, siendo la actividad antibacteriana del extracto purificado de hojas de clavo mejor que el extracto crudo. Concluyeron que la concentración para inhibir el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* es el extracto purificado al 25 % (21).

Rodríguez L., en el año 2022 realizó su investigación en Colombia titulada “*Susceptibilidad antimicrobiana a Trimetoprima/Sulfametoxazol por concentración mínima inhibitoria en aislamientos clínicos de bacilos entéricos provenientes de cavidad oral*” (22). Su finalidad fue determinar la susceptibilidad antibiótica en aislamientos clínicos de Bacilos

entéricos de la cavidad oral a Trimetoprima/Sulfametoxazol. Fue un estudio descriptivo in vitro, trabajó con 72 aislamientos clínicos de bacilos entéricos como muestra. Demostró con sus resultados que la bacteria en los aislamientos clínicos fueron *Enterobacter cloacae* con 36,1 %, *Cronobacter sakazakii* con un 18,1 %, *Klebsiella oxytoca* en un 15,3 % y *Klebsiella pneumoniae* con un 13,9 %, y con menor frecuencia la *Serratia liquefaciens* y *Serratia marcescens* en un 5,6 %, *Enterobacter gergoviae* y *Enterobacter aerogenes* con un 2,8 %. El 98,7 % fueron susceptibles al Trimetoprima-Sulfametoxazol de los aislamientos evaluados. Mientras un 1,3 % fue resistente con una MIC de 8 µg/mL, y los demás fueron sensibles con un 22,2 % tuvieron una MIC de 0,5 µg/mL y el 65,3 % tuvieron una MIC ≤ 0,25 µg/mL. La MIC 50 para todos los aislamientos fue ≤ 0,25 µg/mL y la MIC 90 fue 1 µg/mL. Concluye que los aislamientos tienen una alta susceptibilidad al antibiótico Trimetoprima Sulfametoxazol, siendo una alternativa de tratamiento para los pacientes que presenten infecciones de la cavidad oral asociadas con estos microorganismos (22)

Ramadhani R., et al. En el año 2020, en Indonesia desarrollan la investigación “*Efecto antibacteriano del extracto de hoja de clavo (Syzygium aromaticum) contra Escherichia coli y Staphylococcus aureus*” (23) con la finalidad de determinar los compuestos de las hojas de clavo y su actividad antibacteriana contra *E. coli* y *S. aureus*. Se realizó la extracción mediante la técnica de maceración, los resultados demuestran que los compuestos identificados son los metabolitos secundarios (alcaloides, esteroides, triterpenoide, saponinas) de las hojas de clavo, demostró que la fracción de acetato de etilo era la más activa para inhibir el crecimiento de la bacteria *E. coli* y *S. aureus* con CMI del 10 %. El compuesto más dominante en la fracción de acetato de etilo se encuentra cafeína con un contenido del 23,36 %. El MIC de la fracción de acetato de etilo de la hoja de clavo a las concentraciones de 5, 10, 15, 20 y 25 % fueron 0,224; 0,030; 0,072; 0,038; 0,046 para *E. coli* y para *S. aureus* fue 0,279; 0,074; 0,060; 0,035; 0,021; donde el 5 % sigue presente el crecimiento bacteriano con valores altos de absorbancia, pero al 10 % la absorbancia disminuye indicando que no hay crecimiento bacteriano. Se utilizó el método de difusión en disco en la fracción de acetato de etilo de las hojas

el clavo existe la mayor inhibición 17,41 mm para la bacteria *E. coli* y 17,37 mm para *S. aureus* y el extracto de etanol tiene un 16,07 mm y 16,73 mm para las bacterias *E. coli* y *S. aureus* y la fracción de n-hexano un 13,61 mm y 15,25 mm para *E. coli* y *S. aureus*. Concluyeron que la fracción de acetato de etilo de hojas de clavo tiene mayor actividad antibacteriana contra *E. coli* y *S. aureus* con un valor MIC del 10 % y zona resistencia de ± 17 mm, esta fracción de acetato de etilo presenta compuestos bioactivos siendo cafeína 23,36 % el mayor de los componentes (23).

Mejía E. en el año 2019, realiza su trabajo titulado “*Análisis de la resistencia en Escherichia coli BLEE positiva, codificada por blaTEM-20, blaSHV-2 y del efecto inhibidor del extracto metanólico de Ruta chalepensis L. y un aceite esencial de Syzygium aromaticum L.*” (24), tuvo como finalidad analizar la resistencia en *E. coli* BLEE positiva, y la actividad antibacteriana del extracto metanólico de *R. chalepensis L.* ruda y el aceite esencial de *S. aromaticum L.* clavo. La extracción del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* tuvo un rendimiento del 6,35 % con una densidad de 1,16 g/mL y el

extracto metanólico de *Ruta chalepensis* un rendimiento del 16,60 %. Se realizó la cromatografía de gases-masas del extracto metanólico de ruda identificando compuestos indólicos (fenilindol, indolizina) y al aceite esencial de clavo componentes terpénicos (eugenol, cariofileno). Se realizó la evaluación bacteriana en placa-agar midiendo los halos de inhibición, donde el clavo tiene mayor efecto inhibitor que la ruda, el *S. aromaticum* tiene un halo de 21 mm, un CMI: 10 mg/mL y CMB: 80 mg/mL, el *R. chalepensis* tiene un halo de 10 mm, CMI: 0,78 mg/mL y CMB: 3,125 mg/mL. Concluye que el aceite esencial de clavo tiene mayor actividad antibacteriana que el extracto metanólico de ruda frente a cepas multiresistentes de *E. coli* BLEE (24).

Ugha, K., Indriarini, D., Koamesah, S. en el año 2019, en Indonesia realizaron la investigación titulada “*Prueba de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de clavo (Syzygium aromaticum L.) sobre el crecimiento de Escherichia Coli in-vitro*” (25) tuvo como objetivo determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de hojas de clavo frente a *Escherichia coli*. Se realizó el análisis fitoquímico del

extracto etanólico de hojas de clavo comprobando que existen flavonoides, taninos y alcaloides, y saponinas. Se utilizó el método de difusión con discos de papel, con concentraciones de 10 %, 20 %, 40 %, 60 %, 80 %, 100 %; obteniendo un halo de inhibición de 0,63 cm; 0,94 cm; 1,05 cm; 1,18 cm; 1,38 cm y 1,58 cm respectivamente. La CIM es la concentración del 10 % y la concentración de muerte (KBM) es del 100 %. Los resultados obtenidos mostraron que todas las concentraciones formaron halos de inhibición, la prueba de Kruskal-Wallis con $p = 0,003$, demuestra la diferencia significativa en el diámetro de la zona de inhibición entre grupos. Concluyeron que el extracto etanólico de hojas de clavo presenta una actividad antibacteriana contra *Escherichia coli*, con halo de inhibición más grande al 100 % a 1,58 cm y la más pequeña al 10% a 0,63 cm (25).

2.1.2. Antecedentes Nacionales

Arévalo F., Suarez N. en el año 2022, desarrolló su investigación titulada “*Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de los botones florales de Syzygium aromaticum L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) sobre Salmonella entérica*”

subespecie entérica ATCC 51741" (26). Su finalidad fue evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Syzygium aromaticum* sobre *Salmonella in vitro*. Su estudio fue cuantitativo, experimental, explicativo, prospectivo y trasversal, se trabajó con 1 kg de clavo de olor como muestra. En sus resultados demuestran que el extracto etanólico de clavo de olor contiene alcaloides, taninos, Lactonas α , β -insaturadas, flavonoides y azúcares reductores. El ciprofloxacino de 5 ug obtuvo un halo de 35,31 mm., y el extracto etanólico de *Syzygium aromaticum* al 75 % el cual obtuvo un halo de 12, 65 mm., 25 % (8,86 mm) y 5 % (7,32 mm). Se concluye que el extracto etanólico de *Syzygium aromaticum* presenta actividad antibacteriana frente a cepas de *Salmonella enterica*. Las concentraciones del extracto etanólico de *Syzygium aromaticum* al 5 %, 25 % y 75 % poseen efecto antibacteriano frente a *Salmonella enterica*, pero no tuvieron mayor efecto antibacteriano en comparación con Ciprofloxacino 5ug (26).

Peve B., Rosales C. en el año 2022 realizó su trabajo "*Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Syzygium aromaticum L. (clavo de olor) sobre Escherichia coli ATCC*

25922” (27). Tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Syzygium aromaticum* L. (clavo de olor) *in vitro*, sobre *Escherichia coli*. Fue un estudio cuantitativo, experimental, analítico, explicativo, prospectivo, correlacional y trasversal, con una muestra de 1/2 kg de *Syzygium aromaticum* L., pulverizada. Se realizó el análisis de índice afrosimétrico, determinación de pH a 25 °C y prueba de solubilidad previo del extracto hidroalcohólico, luego la marcha fitoquímica, la actividad antibacteriana en el método Kirby-Bauer y la activación de la cepa *Escherichia coli*. Los resultados obtenidos demuestran la existencia moderada de alcaloides, saponinas, antocianinas, taninos y flavonoides, existencia cuantiosa de compuestos fenólicos, en cantidad mínima esteroides y/o triterpenoides, se comprobó estadísticamente con la prueba Anova ($p=0,00$) que el extracto etanólico de *Syzygium aromaticum* L. presenta efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli in vitro*, asimismo el efecto antibacteriano se presenta en todas sus concentraciones, comparado con el ciprofloxacino este presenta mayor efecto antibacteriano que el extracto etanólico de *Syzygium aromaticum* L. Concluye que el extracto de *Syzygium aromaticum* L. presenta metabolitos

secundarios como alcaloides, saponinas, flavonoides y taninos. El extracto etanólico de clavo de olor al 60 y al 90 % presenta un efecto antibacteriano en el cultivo de *Escherichia coli* (27).

Flores J., García F. en el año 2021, realizaron su investigación titulada “*Actividad antibacteriana del alcohol en gel a base de aceite esencial de Syzygium aromaticum (clavo de olor) frente a Staphylococcus aureus*” (28), con la finalidad de demostrar la actividad antibacteriana del alcohol en gel de aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a *Staphylococcus aureus*. Siendo un estudio de tipo cuantitativo, transversal, prospectivo y experimental, la muestra fue no probabilística constituida de 5 Kg de clavo de olor. Los resultados demuestran que los halos de inhibición obtenidos del aceite de *Syzygium aromaticum* al 100% sobre *Staphylococcus aureus*, obtuvo un 25,87 mm y para el 50% fue de 19,93 mm, para el alcohol en gel de *Syzygium aromaticum* al 15 % un 12,91 mm de halo de inhibición y al 25 % un 16,14 mm, el control positivo (alcohol gel comercial) 14,48 mm. Según la escala de Duraffourd frente al *Staphylococcus aureus*, el aceite de *Syzygium aromaticum* al 100% es sumamente sensible, y al 50 % es muy sensible, y

para el alcohol en gel *Syzygium aromaticum* al 25 % es muy sensible y al 15% al igual que el alcohol en gel comercial son sensibles. Concluyeron que el alcohol en gel de aceite esencial de *Syzygium aromaticum* presentó actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* al igual que el aceite esencial de *Syzygium aromaticum* y al comparar con el alcohol gel comercial se demuestra que este presenta menor actividad antibacteriana comparado con el alcohol en gel a base de *Syzygium aromaticum* al 25% y mayor efecto al 15% (28).

Albines W. en el año 2020, efectúa su trabajo titulado “*Efecto antibacteriano in vitro del Syzygium aromaticum “clavo de olor” y Origanum vulgare “orégano” frente a Streptococcus mutans atcc 2517”* (29), tiene como finalidad evaluar el efecto antibacteriano del *Syzygium aromaticum* y *Origanum vulgare* frente al *Streptococcus mutans in vitro*. El estudio Comparativo, prospectivo, prolectivo, experimental y trasversal, con una muestra de cepas de *Streptococcus mutans*. Los resultados comparando el efecto antibacteriano del *Syzygium aromaticum* y *Origanum vulgare* frente al *Streptococcus mutans*, un 20,09 mm se obtuvo como halo del *Syzygium aromaticum* (100%)

siendo mayor al 14,14 mmm de halo de inhibición del *Origanum vulgare* (100 %); un 10,63 mm en el gluconato de clorhexidina (0,12 %). Concluye que el efecto antibacteriano que presenta el *Syzygium aromaticum* y *Origanum vulgare* frente al *Streptococcus mutans* fue significativo estadísticamente. Siendo el mayor promedio el aceite de *Syzygium aromaticum* (100%) con un halo de 20,09 mm mayor que el Gluconato de Clorhexidina (0,12 %) con 10,63 mm (29).

Curo M., Gonzáles M. en el año 2020 realizaron su estudio titulado “Comparación de la actividad anti *Escherichia coli* atcc 25922 de los aceites esenciales de *Melissa officinalis* L. (toronjil) y *Syzygium aromaticum* L. (clavo de olor) para el desarrollo de una formulación de emulsión bebible” (30) con la finalidad de comparar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Melissa officinalis* L. (toronjil) y *Syzygium aromaticum* L. (clavo de olor) sobre *Escherichia coli in vitro*. El estudio fue cuantitativo, analítico, deductivo, prospectivo y transversal; la muestra fueron el aceite esencial de toronjil y clavo de olor obtenidos. Los resultados demuestran que los halos de inhibición del aceite esencial de *Syzygium aromaticum*

L. a diferentes concentraciones del 100 %, 75 % y 50 % sobre *Escherichia coli*, siendo 17,77 mm; 15,96 mm y 13,69 mm respectivamente. Y para el aceite esencial de toronjil a las concentraciones del 100 %, 75 % y 50 % sobre *Escherichia coli* siendo 11,99 mm; 10,11mm y 8,91mm respectivamente; y el control positivo ciprofloxacino un 27,39 mm. Concluyen que el aceite esencial de *Syzygium aromaticum* L. al 100 % presenta efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* mayor al aceite esencial de *Melissa officinalis* L (30).

2.1.3. Antecedentes Locales

No se encuentran estudios similares desarrollados en la localidad los últimos cinco años.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. *Syzygium aromaticum* (clavo de olor)

Es una planta de color verde, crece de 3 a 6 m de altura, presenta un olor fenólico intenso y sabor acre. Los botones se recolectan en los meses de febrero y octubre; se dejan secar y

luego se separan de sus pedúnculos (31).

Desde hace muchos años, se han descubierto los poderes curativos y calmantes de esta planta, y es utilizada en muchos países para la digestión, fiebre, dispepsia, por sus propiedades estimulantes y carminativas (31).

Dentro de sus componentes se encuentra el Eugenol (2-metoxi-4alil fenol) y el aldehído cinámico (3-fenil-2- propenal), que poseen actividad antimicrobiana (32).

Ubicación Taxonómica

Syzygium aromaticum (clavo de olor) presenta la siguiente clasificación taxonómica:

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Myrtales*

Familia: *Myrtaceae*

Género: *Syzygium*

Especie: *Syzygium aromaticum*

2.2.1.1. Aceite esencial de *Syzygium aromaticum* (clavo de olor)

Los aceites esenciales son las mezclas líquidas volátiles complejas que pueden tener hasta 100 componentes, su extracción se realiza mediante destilación por arrastre con vapor de agua, estas sustancias son importantes en varias industrias como la cosmética (perfumes, aromatizantes), alimentos (condimentos, saborizantes) y farmacéutica (saborizantes) (33).

Los aceites esenciales son mezclas que contienen componentes como los hidrocarburos, terpenos, aldehídos, ésteres y compuestos fenólicos, quienes dan el aroma característico (32,33).

Composición: Su principal componente es el Eugenol con un 83,6 %, y en menores porcentajes el acetato de Eugenilo con 11,6 % y cariofileno con 4,2 % (32)

Propiedades: Diversas investigaciones han mencionado el uso tradicional del aceite esencial de clavo por sus propiedades como antiséptico, carminativo, antihelmíntico, antiemético,

antidiarreico, antiespasmódico, hepatoprotector, espasmolítico, antimutagénico, antidepresivo, refuerzo renal, antipirético, neuroprotector, antialérgico, antidiabético, hipocolesterolémicos. Pero, muchas de estas propiedades no han sido investigadas y probadas (34, 35)

El aceite esencial del clavo de olor ha sido investigado por la gran cantidad de eugenol como para contrarrestar trastornos digestivos (diarrea), antimutagénico. Además, como antiséptico, analgésico, antibacteriano, antifúngico, anestésico, anticancerígeno, antidiabético, antioxidante, antiinflamatorio e insecticida (36).

Sin embargo, existen estudios *in vitro* de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de clavo contra patógenos como *E. coli*, *Salmonella*, *Klebsiella pneumoniae*, *Erwinia carotovora*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *S. aureus*, *Streptococcus*, *L. monocytogenes*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *C. albicans* y levaduras; actuando debilitando la membrana celular, y por consiguiente la eliminación los microorganismos. (6,20,21,23,25,26,27,28,29,30,34,35).

Mecanismo de acción: El aceite esencial del clavo de olor tiene propiedades antimicrobianas, debido a los compuestos fenólicos, actúa desnaturalizando las proteínas de la pared celular de los microorganismos, cambiando la permeabilidad de la membrana celular por la reacción con fosfolípido causando la muerte del microorganismo (32).

Método de extracción: Existen varios métodos para extraer los aceites esenciales pueden ser: por extracción por prensado/ raspado, por enfleurage (enflorado) en frío, por extracción con solventes volátiles, por extracción con fluidos supercríticos, pero la más utilizada es la destilación por arrastre con vapor de agua (33).

Para la extracción del aceite esencial de clavo de olor *Syzygium aromaticum* en esta investigación se aplicó el método de destilación por arrastre de vapor.

2.2.2. *Escherichia coli*

Es una bacteria gram negativa aerobia de la familia enterobacterias, esta se encuentra formando la microbiota del

tracto gastrointestinal de animales y el ser humano, algunas de sus cepas son causantes de infecciones intestinales o entéricas, infecciones urinarias, infecciones invasivas e infecciones en otros sitios (37).

Esta bacteria es un bacilo gramnegativo, oxidasa negativo, catalasa positivo, anaerobio facultativo, crece a 37 °C de temperatura (mesófilo), fimbriado y posee flagelos peritricos que le dan movilidad (38).

Las cepas de *E. coli* que pueden causar diarreas son (37):

- ✓ Enterohemorrágicas: son productoras citotoxinas, neurotoxinas y enterotoxinas como la toxina Shiga (verotoxina), causando diarreas con sangre, y síndrome urémico hemolítico (2 al 7 %). Entre las cepas está el serotipo O157:H7 y otros.
- ✓ Enterotoxigénicas: causantes de diarreas acuosas, se dan en viajeros y lactantes.
- ✓ Enteroagresivas: causan diarrea inflamatoria.
- ✓ Enteropatogénicas: causan diarrea acuosa en lactantes.
- ✓ Enteroagregativas: causan diarreas persistentes en

pacientes inmunodeprimidos.

Diagnóstico. Mediante el cultivo de muestras de orina, heces y otros materiales clínicos. Si se sospecha de la cepa entero hemorrágica *E. coli* O157:H7, se realiza una prueba de heces para las toxinas Shiga, de confirmarse la *E. coli* O157:H7, se realizan análisis de sangre para descartar el síndrome urémico hemolítico (37).

2.2.3. Fármaco patrón: Sulfametoxazol/Trimetoprima

2.2.3.1. Grupo terapéutico y sus características

Antibiótico. Grupo sulfamidas: Las sulfamidas fueron uno de los primeros grupos con propiedades quimioterapéuticas muy efectivos utilizado en las infecciones bacterianas en humanos. Pero con el tiempo fue desplazado por las penicilinas, pero en 1970 se combina con trimetoprima y sulfametoxazol, siendo un fármaco que abarca bacterias grampositivas y negativas (39).

Actividad y mecanismo de acción. El Sulfametoxazol inhibe el del ácido para-aminobenzoico (PABA) en el proceso de la síntesis del dihidrofolato en la célula bacteriana y produce la

bacteriostasis. Sin embargo, la Trimetoprima inhibe de manera reversible la dihidrofolato reductasa bacteriana (DHFR), es la enzima que convierte dihidrofolato en tetrahidrofolato, en la ruta metabólica del folato, siendo su efecto bactericida, según las condiciones. Combinados la Trimetoprima y Sulfametoxazol, realizan el bloqueo de estas dos etapas en la biosíntesis de purinas (ácidos nucleicos), produciendo una acción potenciada contra las bacterias (40).

Resistencia. La resistencia bacteriana a Trimetoprima/Sulfametoxazol se da por diferentes mecanismos como: bombas de eflujo; enzimas cromosómicas blanco (DHPS y DHFR) naturalmente resistentes; cambios regulatorios en las enzimas blanco; cambios mutacionales y siendo el más deseminado el mecanismo de adquisición de enzimas blanco resistentes a estos antibióticos mediante plásmidos conjugativos (4).

Sensibilidad. La prevalencia de la resistencia para algunas especies mencionadas puede variar con el tiempo y geográficamente, tenemos (40):

Especies frecuentemente sensibles, tenemos a los Aeróbios Gram-positivos (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus pyogenes*) y los Aeróbios Gram-negativos (*Burkholderia pseudomallei*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella granulomatis*, *Klebsiella oxytoca*, *Moraxella catarrhalis*, *Stenotrophomonas maltophilia*) (40).

Dentro de las especies que la resistencia adquirida puede ser un problema, tenemos Aeróbios Gram-positivos (*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Nocardia spp.*, *Streptococcus pneumoniae*); Aeróbios Gram-negativos (*Citrobacter spp.*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Providencia spp.*, *Salmonella enteritidis*, *Serratia marcescens*, *Shigella spp.*, *Yersinia spp.*, *Vibrio cholerae*). Finalmente, los organismos intrínsecamente resistentes tenemos Aeróbios Gram-negativos (*Pseudomonas aeruginosa*) (40).

Efectos adversos. Los efectos adversos que se presentan frecuentemente son alteraciones gastrointestinales (náuseas,

vómitos, diarrea, anorexia, dolor abdominal, dispepsia) y las reacciones de hipersensibilidad (rash cutáneo, urticaria) y cefaleas. Pueden también presentarse efectos severos como el Síndrome de Stevens-Johnson, necrosis tóxica epidérmica, necrosis hepática, alteraciones hematológicas, fotosensibilidad, pancreatitis, falla renal, hiperpotasemia, hiponatremia. (39)

2.3. Definición de términos

- a) **Actividad antibacteriana:** Capacidad de eliminar y/o inactivar las bacterias, o impedir su proliferación o acción patógena (41).
- b) **Cepa:** Cultivo puro formado por bacterias de un solo aislamiento (41).
- c) **Disco de sensibilidad:** Discos de papel impregnados un antimicrobiano para determinar la susceptibilidad antimicrobiana (41).
- d) **Efecto antibacteriano:** Capacidad de eliminación de un microorganismo, inactiva su crecimiento y desarrollo patógeno (42).
- e) **Escala de Duraffourd:** Escala que permite determinar la sensibilidad antibacteriana, según la medición de los diámetros

de los halos de inhibición producidos (41).

- f) **Halo de inhibición:** una zona que se produce alrededor del disco de sensibilidad, indicando la capacidad de impedir el crecimiento antibacteriano después de un tiempo determinado (42).
- g) ***In vitro*:** Técnica para desarrollar un experimento en un ambiente controlado (laboratorio) (43).
- h) **Medio de cultivo:** Medio artificial que contiene sustancias nutritivas para el crecimiento y multiplicación bacteriana *in vitro*, estas pueden ser sólido, semisólido o líquido (41).
- i) **Método de Kirby - Bauer:** llamado también Antibiograma, técnica que permite determinar la sensibilidad de un agente bacteriano frente a un antibiótico (44).

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. Tipo y diseño de la investigación

3.1.1. Tipo de investigación

El tipo de investigación es aplicada, porque tiene propósitos prácticos para producir cambios utilizando los conocimientos teóricos (45).

3.1.2. Diseño de Investigación

El diseño es no experimental, porque no se manipulan las variables, solo se observan los fenómenos para analizarlos. Es transversal correlacional, porque se compilan datos en un solo momento y se relacionan las variables (46).

El enfoque es cuantitativo porque es secuencial y probatorio, se realiza la recolección de datos para comprobar hipótesis con la medición numérica y el análisis estadístico, con la finalidad de comprobar teorías (46).

Es comparativa, porque nos permite conocer los hechos en su totalidad realizando la comparación de sus semejanzas y diferencias (45).

3.1.3. Nivel de Investigación

El nivel del estudio es correlacional porque permiten analizar la relación entre las variables (45).

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Cultivos de *Escherichia coli* realizado "in vitro".

3.2.2. Muestra

Se realizó el ensayo con el aceite esencial *Syzygium aromaticum*, utilizando un diseño no experimental de bloques (concentraciones) mediante un muestreo no probabilístico por conveniencia, que consta de nueve tratamientos con nueve repeticiones obteniendo un total de 81 unidades de prueba.

3.3. Métodos, técnicas e instrumentos para la recolección de datos

Los métodos utilizados fueron: método de la prueba de sensibilidad antibiótica, extracción por arrastre de vapor y rendimiento del aceite esencial *Syzygium aromaticum*.

Las técnicas utilizadas fueron: la observación y la medición de la zona de inhibición de crecimiento microbiano para cada una de las concentraciones de aceite esencial de *Syzygium aromaticum*.

Los instrumentos utilizados fueron: ficha de observación y ficha de registro.

3.3.1. Obtención y preparación de la muestra (Técnica de Duraffourd, y col 1983)

La obtención de los botones florales de clavo de olor *Syzygium aromaticum* se realizó en el sitio abastos del mercado Grau del Distrito, provincia y departamento de Tacna.

Para la preparación de los botones florales de clavo de olor *Syzygium aromaticum* se procedió a revisar y verificar que se encuentren en buen estado y no presenten síntomas de enfermedades, envejecimiento, deterioro por plagas que puedan interferir en la extracción del aceite esencial. Luego fueron almacenadas en una bolsa de papel para su traslado y

conservación, hasta su identificación y procesamiento.

3.3.2. Extracción por arrastre de vapor y rendimiento del aceite esencial *Syzygium aromaticum* (Técnica de Huamán y col 1993)

Para la extracción del aceite esencial del clavo de olor *Syzygium aromaticum* se realizó mediante el método de destilación por arrastre de vapor. Este equipo está constituido por un sistema de destilación de doble balón, uno de los balones contiene el agua destilada que fue expuesta al calor directo, en el otro balón se colocó 250 gramos de botones de clavo de olor *Syzygium aromaticum* tapándolo a presión para que no escape el vapor, y finalmente se procedió a encender el equipo de destilación para la obtención del aceite esencial, en el momento de la ebullición del agua, se reciben los vapores para liberar el vapor mixto (agua - aceite esencial) en dirección al condensador. El aceite filtrado obtenido se guarda en un frasco oscuro color ámbar cerrado herméticamente y se almacenó bajo refrigeración y alejado de la luz hasta el momento de su utilización.

A. Determinación de densidad

Probeta de 5 ml. Vacía = 16,2270 g.

Probeta de 5 ml. con aceite = 17,3025 g.

Masa = 17,3025 - 16,2270

Masa = 1,0755

Volumen = 1,0 mL

Fórmula N°1:

$$d = \frac{m}{v}$$

d = densidad

M = masa

V = volumen

$$d = \frac{m}{v}$$

$$d = \frac{1,0755 \text{ g}}{1\text{mL}}$$

$$d = 1,0755 \text{ g/mL}$$

B. Rendimiento de aceite esencial (RAE)

Para determinar el rendimiento de aceite esencial (RAE) en porcentaje (%) se realizó mediante el método gravimetría-volumétrico, para la obtención del aceite esencial por el método de arrastre por vapor de agua. Se obtuvo 4,4 ml de aceite esencial a partir de 250 g de botones de clavo de olor *Syzygium aromaticum*, con un rendimiento de aceite esencial de 1,76 %, aplicando la siguiente fórmula:

Fórmula N° 2:

$$\% \text{ RAE} = \frac{\text{Vol. AE (ml)}}{\text{P}_{\text{muestra}}(\text{g})} \times 100$$

Donde:

% RAE = Porcentaje del aceite esencial (Rendimiento)

Vol. AE = Volumen del aceite esencial obtenido.

Pmuestra = Peso de la muestra a destilar.

$$\% \text{ RAE} = \frac{4,4 \text{ ml}}{250 \text{ g}} \times 100$$

$$\% \text{ RAE} = 1,76 \approx 1,8 \%$$

3.3.3. Preparación del inóculo (Técnica de Paula y Martins, 2000)

El microorganismo de estudio que se utilizó fue producto liofilizado de *Echerichia coli* ATCC 25922, microorganismo patógeno de importancia clínica, que se obtuvo proporcionada por el laboratorio de la Facultad de Ciencias de la Universidad nacional Jorge Basadre Grohmann.

La cepa bacteriana en estudio *Echerichia coli* fue reactivada en tubos de ensayo con caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI) e incubadas a 37 °C durante 24 horas. Luego fueron transferidos a viales con agar nutritivo e incubados a 37 °C por 24 horas.

Para la preparación de la suspensión del inóculo del agente bacteriano de prueba, se tomó con el Asa Kolle el cultivo y se suspendieron en 10 ml de Caldo BHI estéril hasta que se alcanzó una turbidez de tubo 0,5 de la escala de Mac Farland ($1,5 \times 10^8$ cel./mL)

3.3.4. Determinación del efecto antibacteriano (Técnica Duraffourd y col, 1983)

Se realizó impregnando 10 µL, 12.5 µL, 15 µL, 17.5 µL, 20 µL, 22.5 µL, 25 µL, 27.5 µL, 30 µL del aceite esencial de clavo de olor *Syzygium aromaticum* sobre discos de sensibilidad

previamente desproteinizados (autoclave) de 6mm de diámetro, y esterilizados por vapor seco (Horno); para cada una de las concentraciones a prueba.

Luego se tomó 0,1 ml del cultivo microbiano de la dilución correspondiente al tubo 0,5 según el Nefelómetro de Mac Farland ($1,5 \times 10^8$ cel/ml) y se procedió a sembrar por diseminación en toda la superficie de las placas que contiene agar Mueller Hinton. Después de 30 minutos, se procedió a colocar los discos embebidos con 10 μ L, 12.5 μ L, 15 μ L, 17.5 μ L, 20 μ L, 22.5 μ L, 25 μ L, 27.5 μ L, 30 μ L de aceite esencial de clavo de olor *Syzygium aromaticum*, con una pinza estéril y colocado sobre la superficie del agar; dejando secar a temperatura ambiente durante 5 minutos y luego se incubó a 37 °C por 24 horas. La lectura se realizó midiendo el halo de inhibición sobre el crecimiento microbiano alrededor del disco.

3.3.5. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) (Técnica de Granados y Villaverde, 1997)

La determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* se realizó por el método de macrodilución en medio líquido en 12 tubos dentro

de estos 10 tubos tendrán los volúmenes correspondientes a su lugar de aceite esencial diluidas con el DSMO (partes iguales) con caldo BHI y 10 % del volumen total del inóculo bacteriano 0,5 de la escala de Mac Farland ($1,5 \times 10^8$ células/ml) conteniendo 01 control positivo y 01 control negativo, cuyo volumen final 3ml.

3.3.6. Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) (Choquehuanca, 2004)

Para determinar el CMB, se realizó después de 24 horas de determinar el MIC del aceite esencial de *Syzygium aromaticum*. Primero se procedió a sembrar en agar Mueller Hinton a partir de la desaparición de la turbidez en los últimos tres tubos (sembrar 0,1 ml de cada uno de ellos por diseminación) e incubados a 37 °C por 24 horas; la lectura se efectuó tomando en cuenta que el CMB tendrá que eliminar el 99 % de colonias microbianas.

3.4. Materiales y/o instrumentos

3.4.1. Equipos

- Autoclave FIMET

- Incubadora MEMMERT
- Refrigeradora BIOBASE
- Destilador CLIMATEC S.A.C
- Estufa MEMMERT
- Balanza analítica KERN AES
- Equipo de destilación
- Cocina eléctrica de laboratorio RANFERIC
- Mechero bunsen
- Micropipeta digital 0,5-10ul Transferpette S
- Micropipeta digital 10-100ul Transferpette S
- Micropipeta digital 100-1000ul Transferpette S
- Vernier digital

3.4.2. Materiales de vidrio

- Tubos de ensayo con tapa rosca de 15 x 125 mm.
- Tubos de ensayo de 13 x 100 mm y 40 de 15 x 125 mm.
- Placas Petri de 10 x 100 mm
- Matraces de 250 y 500 ml.
- Pipetas de 1 y 5 ml.
- Vasos precipitados de 200 ml.
- Frasco de vidrio color ámbar de 100 ml capacidad.
- Viales de 10 ml.

- Probeta de 100 ml.

3.4.3. Medios de cultivo

- Agar Mueller Hinton
- Caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI).
- Agar Nutritivo

3.4.4. Otros materiales

- Asa de Kolle
- Gradillas
- Espátulas
- Pinzas
- Pizetas
- Papel Kraft
- Mascarilla
- Guantes quirúrgicos
- Gorro quirúrgico
- Guardapolvo
- Algodón
- Alcohol de 70 °C.
- Pabilo

- Papel aluminio
- Marcadores
- Calculadora
- Discos de sensibilidad de sulfametoxazol/trimetoprima (SXT) 25 µg OXOID
- Dimetil Sulfoxido 10%(DMSO).
- Puntas desechables para micropipetas

3.5. Procesamiento de datos

Para el procesamiento de datos se realizó la clasificación de la información y tabulación de los datos. Para el análisis de los datos, se utilizó pruebas estadísticas descriptivas el análisis de frecuencia (tablas y gráficos), medidas de tendencia central promedio. Prueba de normalidad: Kolmogórov-Smirnov y Shapiro-Wilk.

La estadística inferencial para la contrastación de la hipótesis (ANOVA y Prueba de Levene de igualdad de varianzas) con un $\alpha=0,05$ y un nivel de confianza de 95 %, utilizando el Software estadístico SPSS versión 27 en español y gratuito.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

Tabla 1. Efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a Sulfametoxazol/Trimetoprima en relación con *Escherichia coli* ATCC 25922, por el método de difusión en disco (Kirby Bauer).

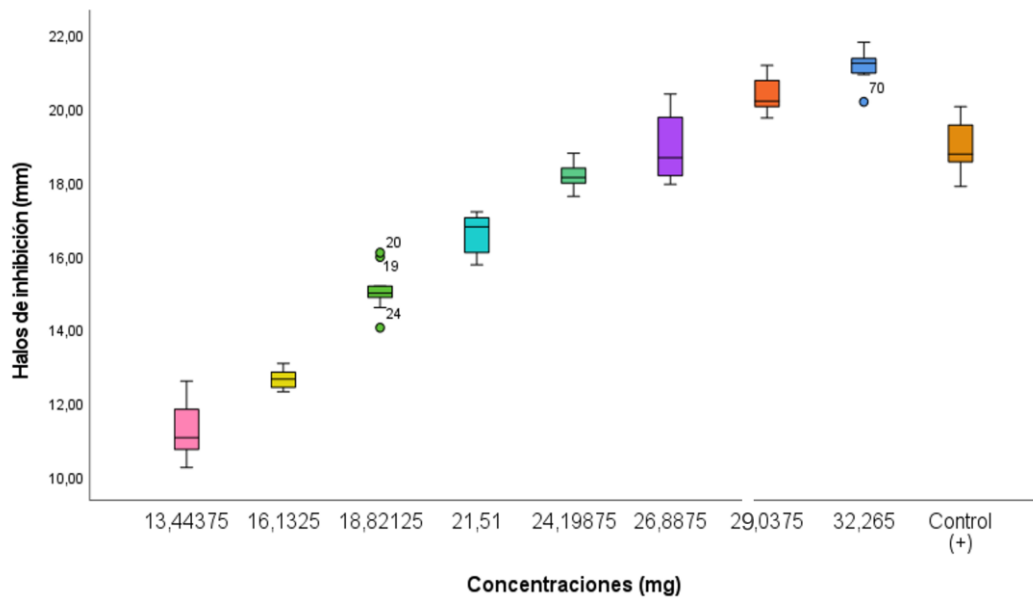
N ° de Tratamientos	Aceite esencial		Repeticiones									Promedio
	Concentración	Volu men	Halo de inhibición(mm)									
	(mg)	(uL)	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	
T1	10,755	10	<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6	
T2	13,44375	12,5	12,58	11,84	10,23	11,81	10,67	10,72	10,75	11,04	11,19	11,20
T3	16,1325	15	12,29	12,69	12,41	12,82	12,89	12,63	13,06	12,37	12,6	12,64
T4	18,82125	17,5	16,07	15,95	15,16	14,99	14,91	14,03	14,97	14,85	14,58	15,06
T5	21,51	20	17,18	16,07	15,74	17,02	16,18	16,04	16,77	16,79	17,09	16,54
T6	24,19875	22,5	18,77	17,96	18,11	18,37	18,46	18,12	17,6	17,73	17,98	18,12
T7	26,8875	25	19,75	19,78	20,38	17,97	17,93	18,16	18,65	18,78	18,49	18,88
T8	29,0375	27,5	21,03	21,16	20,75	20,04	19,73	20,18	19,85	20,19	20,2	20,35
T9	32,265	30	21,35	21,71	21,79	21,26	21,22	20,91	20,17	20,98	20,95	21,15
Control (-)			<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6	
Control (+) Sulfametoxazo l/Trimetoprima	25 ug		19,36	18,74	18,22	18,75	17,87	18,54	19,54	20,04	19,54	18,96

Fuente: Elaboración propia.

Interpretación

En la tabla 1, se muestra los promedios de los Halos de inhibición (mm) frente a la *Escherichia coli* ATCC 25922 a diferentes de concentraciones del aceite esencial de *Syzygium aromaticum*, por el método de difusión en disco (Kirby Bauer).

Los resultados obtenidos indican un ligero mayor promedio en el halo de inhibición a la concentración de 32,265 mg con un promedio de 21,15 mm, por otro lado, la menor concentración fue de 13,44375 mg con un promedio de halo de inhibición de 11,20 mm. Demostrándose que sus halos estuvieron por arriba de la sensibilidad siendo directamente proporcional entre sus concentración y halo, es decir, a mayor concentración mayor será el crecimiento del halo de inhibición (mm)



Fuente: Tabla 1

Figura 1. Diagrama de Box plot y comparación entre promedios de los halos de inhibición (mm) de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a la *Escherichia coli* ATCC 25922.

En la figura 1 se observa los promedios de las concentraciones de los halos de inhibición al ser los mismos analizados mediante el ANOVA/GAMES-HOWELL a nivel de significancia de $p < 0,05$. Demuestran que existe una diferencia estadística significativa entre los 8 tratamientos y el control (+).

Tabla 2. Actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* en sus diferentes concentraciones frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, por el método de difusión en disco Kirby-Bauer.

N ° de Tratamientos	Aceite esencial		DIÁMETRO DE HALOS DE INHIBICIÓN (mm)									Promedio
	Concentración (mg)	Volumen (uL)	Repeticiones									
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	
T1	10,755	10	<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6
T2	13,44375	12,5	12,58	11,84	10,23	11,81	10,67	10,72	10,75	11,04	11,19	11,20
T3	16,1325	15	12,29	12,69	12,41	12,82	12,89	12,63	13,06	12,37	12,6	12,64
T4	18,82125	17,5	16,07	15,95	15,16	14,99	14,91	14,03	14,97	14,85	14,58	15,06
T5	21,51	20	17,18	16,07	15,74	17,02	16,18	16,04	16,77	16,79	17,09	16,54
T6	24,19875	22,5	18,77	17,96	18,11	18,37	18,46	18,12	17,6	17,73	17,98	18,12
T7	26,8875	25	19,75	19,78	20,38	17,97	17,93	18,16	18,65	18,78	18,49	18,88
T8	29,0375	27,5	21,03	21,16	20,75	20,04	19,73	20,18	19,85	20,19	20,2	20,35
T9	32,265	30	21,35	21,71	21,79	21,26	21,22	20,91	20,17	20,98	20,95	21,15

Fuente: Elaboración propia.

Interpretación

En la tabla 2, se muestran los resultados del método de difusión en disco (Kirby Bauer), mediante las mediciones de los halos inhibición presentados en los 9 tratamiento y 9 repeticiones por cada tratamiento frente al *Escherichia coli* ATCC 25922 a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Syzygium aromaticum*.

Donde se observa que mayor promedio de halo de inhibición es 21,15 mm que se da a una concentración de 32,265, y el menor halo de inhibición es de 11,20 mm con una concentración de 10,755 mg. Asimismo, según aumenta la concentración del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* aumenta los halos de inhibición proporcionalmente.

Tabla 3. Determinación del grado de sensibilidad de a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Syzygium aromaticum*, según Duraffourd.

N ° de Tratamientos	Aceite esencial		Grado de sensibilidad			
	Volumen (uL)	Concentración (mg)	Nula (-): ≤ a 8 mm	Sensibilidad límite: 9-14 mm	Sensibilidad Media 14 – 19 mm	Sumamente sensible 20 mm a más
			(Nula= -)	(sensible= +)	(Muy sensible=+ +)	(Sumamente sensible=+ ++)
T1	10	10,755	< 6			
T2	12,5	13,44375		11,20		
T3	15	16,1325		12,64		
T4	17,5	18,82125			15,06	
T5	20	21,51			16,54	
T6	22,5	24,19875			18,12	
T7	25	26,8875			18,88	
T8	27,5	29,0375				20,35
T9	30	32,265				21,15

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 3, se muestra el grado de sensibilidad de acuerdo a los promedios de los de inhibición según la escala de Duraffourd.

Se observa que tenemos dos concentraciones del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* presentan grado de sensibilidad sumamente sensible de 29,0385 y 32,265 con halos de inhibición de 20,35 mm y 21,15 mm respectivamente. Seguido de la sensibilidad media con las concentraciones 18,82125; 21,51; 24,19875; 26,8875 con halos de inhibición de 15,06 mm; 16,54 mm; 18,12 mm y 18,88 mm. Tenemos el grado sensible con las concentraciones de 13,44375 y 16,1325 con sus respectivos halos de inhibición 11,20 mm y 12,64 mm, y por último la concentración menor de 10,755 se encuentra en sensibilidad nula.

Tabla 4. Actividad antibacteriana *in vitro* de la Sulfametoxazol/Trimetoprima frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, por el método de difusión en disco Kirby-Bauer.

N ° de Tratamientos	sulfametoxazol/ trimetoprima Concentración (ug)	Repeticiones									Promedio
		Halo de inhibición(mm)									
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	
T1	25	19,36	18,74	18,22	18,75	17,87	18,54	19,54	20,04	19,54	18,96

Fuente: Elaboración propia.

Interpretación

En la tabla 4, se muestran los resultados del método de difusión en disco (Kirby Bauer), mediante las mediciones de los halos inhibición presentados en 9 repeticiones de la Sulfametoxazol/Trimetoprima Frente al *Escherichia coli* ATCC 25922.

Donde se observa que mayor promedio de halo de inhibición es 20,04 mm y el menor halo de inhibición es de

18,22 mm con sulfametoxazol/trimetoprima a 25 ug. Asimismo, el promedio de las 9 repeticiones que se realizaron es de 18,96 mm.

Tabla 5. Determinación del grado de sensibilidad de Sulfametoxazol/Trimetoprima, según Duraffourd.

Sulfametoxazol /Trimetoprima Lote: 3485282		Grado de sensibilidad		
Repeticiones	Concentración (mg)	Sensibilidad límite: 9-14 mm	Sensibilidad Media 14 – 19 mm	Sumamente sensible 20 mm a más
		(sensible = +)	(Muy sensible=+ +)	(Sumamente sensible=+ ++)
R1	25 ug		19,36	
R2	25 ug		18,74	
R3	25 ug		18,22	
R4	25 ug		18,75	
R5	25 ug		17,87	
R6	25 ug		18,54	
R7	25 ug		19,54	
R8	25 ug			20,04
R9	25 ug		19,54	

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 5, se muestra el grado de sensibilidad de acuerdo a los promedios de los de inhibición según la escala de Duraffourd.

Se observa que la Sulfametoxazol/Trimetoprima con una concentración de 25 ug, existe una sola repetición en grado de sensibilidad sumamente sensible y las demás ocho repeticiones nos dan un grado de sensibilidad muy sensible.

VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS

Antes de la comprobación de la hipótesis, se verifica el supuesto de la normalidad de datos y la homocedastidad, para lo cual se sigue el siguiente procedimiento:

A) Verificar el supuesto de normalidad

1) Planteamiento de la hipótesis

H₀: Los halos de inhibición siguen una distribución normal

H₁: Los halos de inhibición no siguen una distribución normal

2) Nivel de significancia

$\alpha = 5 \% = 0,05$

3) Estadístico de prueba

Tabla 6. Prueba de normalidad de Kolmogórov-Smirnov ($n > 50$) y Shapiro -Wilk ($n \leq 50$)

Tratamientos	Kolmogórov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
13,44375	0,175	9	0,200	0,935	9	0,531
16,1325	0,149	9	0,200	0,967	9	0,868
18,82125	0,213	9	0,200	0,920	9	0,395
21,51	0,220	9	0,200	0,895	9	0,226
24,19875	0,169	9	0,200	0,974	9	0,926
26,8875	0,210	9	0,200	0,896	9	0,228
29,0375	0,281	9	0,040	0,896	9	0,229
32,265	0,199	9	0,200	0,932	9	0,498
Control (+)	0,170	9	0,200	0,962	9	0,820

Fuente: SPSS versión 27.0

4) Decisión

Como p-valor= (0,200; 0,200; 0,200; 0,200; 0,200; 0,200; 0,200; 0,200; 0,040; 0,200; 0,200) son mayores al nivel de significancia $\alpha=0,05$; entonces se acepta H_0 .

5) Conclusión

Al 5 % de significancia, se trabaja con la prueba de normalidad de Kolmogórov-Smirnov ($n > 50$), y se concluye que las concentraciones provienen de una distribución normal, luego de efectuar la prueba de normalidad y estas demuestran que las

concentraciones siguen una distribución de la curva normal, en consecuencia, el estadístico prueba para comprobar las hipótesis deben ser estadísticos paramétricos, en este el diseño completamente al azar (DCA).

B) Verificar el supuesto de homocedasticidad de varianzas

1) Planteamiento de la hipótesis

$$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2 = \sigma_4^2 = \sigma_5^2 = \sigma_6^2 = \sigma_7^2 = \sigma_8^2 = \sigma_9^2$$

$$H_1: \sigma_1^2 \neq \sigma_2^2 \neq \sigma_3^2 \neq \sigma_4^2 \neq \sigma_5^2 \neq \sigma_6^2 \neq \sigma_7^2 \neq \sigma_8^2 \neq \sigma_9^2$$

2) Nivel de significancia

$$\alpha = 5\% = 0,05$$

3) Estadístico de prueba

Tabla 7. Prueba de homocedasticidad de varianzas (Levene).

Concentraciones	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	2,491	8	72	0,019
Se basa en la mediana	1,408	8	72	0,208
Se basa en la mediana y con gl ajustado	1,408	8	54,120	0,214
Se basa en la media recortada	2,339	8	72	0,027

Fuente: SPSS versión 27.0

4) Decisión

Como p-valor= 0,019 es menor al nivel de significancia $\alpha=0,05$; entonces se rechaza H_0 .

5) Conclusión

Al 5 % de significancia, se concluye que la varianza de las concentraciones no es igual, no cumpliendo con el supuesto de homocedasticidad, para lo cual en las comparaciones múltiples de post hoc, se asumirá que las varianzas no son iguales, se utilizara la prueba de significancia de Games-Howell.

C) Verificar la hipótesis

1) Planteamiento de la hipótesis

H_0 : No existe diferencia entre el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a Sulfametoxazol/Trimetoprima en relación con *Escherichia coli* ATCC 25922.

H_1 : Existe diferencia entre el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a Sulfametoxazol/Trimetoprima en relación con *Escherichia coli*

ATCC 25922.

2) Nivel de significancia

$\alpha = 5\% = 0,05$

3) Estadístico de prueba

Tabla 8. Diseño completamente al azar (DCA)

ANOVA					
Concentraciones (mg)					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	842,599	8	105,325	295,219	0,001
Dentro de grupos	25,687	72	0,357		
Total	868,287	80			

Fuente: SPSS versión 27.0.

$$F_c = 295,219 \quad p = 0,001$$

4) Decisión

Como $p\text{-valor} = 0,001$ es menor al nivel de significancia $\alpha = 0,05$; entonces se rechaza H_0 .

5) Conclusión

Al nivel del 5 % de significancia se concluye que existe diferencia entre el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a Sulfametoxazol/Trimetoprima en

relación con *Escherichia coli* ATCC 25022.

Tabla 9. Prueba de significancia de Games-Howell de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a Sulfametoxazol/Trimetoprima en relación con *Escherichia coli* ATCC 25922.

Comparaciones múltiples
Variable dependiente: halos de inhibición (mm)
Games-Howell

(I) Tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%		
				Límite inferior	Límite superior	
13,44375 16,1325 18,82125 21,51 24,19875 26,8875 29,0375 32,265 Control (+)	16,1325	-1,43667*	0,26061	0,005	-2,4453	-0,4280
	18,82125	-3,85333*	0,32402	0,000	-5,0098	-2,6968
	21,51	-5,33889*	0,30425	0,000	-6,4356	-4,2422
	24,19875	-6,91889*	0,27474	0,000	-7,9467	-5,8911
	26,8875	-7,67333*	0,38455	0,000	-9,0474	-6,2993
	29,0375	-9,14444*	0,29936	0,000	-10,2277	-8,0612
	32,265	-9,94556*	0,29424	0,000	-11,0155	-8,8756
	Control	-7,75222*	0,34095	0,000	-8,9655	-6,5390
16,1325 13,44375 18,82125 21,51 24,19875 26,8875 29,0375 32,265 Control (+)	13,44375	1,43667*	0,26061	0,005	0,4280	2,4453
	18,82125	-2,41667*	0,22721	0,000	-3,2839	-1,5494
	21,51	-3,90222*	0,19798	0,000	-4,6456	-3,1588
	24,19875	-5,48222*	0,14871	0,000	-6,0198	-4,9447
	26,8875	-6,23667*	0,30742	0,000	-7,4426	-5,0307
	29,0375	-7,70778*	0,19039	0,000	-8,4190	-6,9965
	32,265	-8,50889*	0,18223	0,000	-9,1857	-7,8321
	Control	-6,31556*	0,25076	0,000	-7,2826	-5,3486
18,82125 13,44375	3,85333*	0,32402	0,000	2,6968	5,0098	

	16,1325	2,41667*	0,22721	0,000	1,5494	3,2839
	21,51	-1,48556*	0,27617	0,002	-2,4716	-0,4995
	24,19875	-3,06556*	0,24328	0,000	-3,9609	-2,1702
	26,8875	-3,82000*	0,36274	0,000	-5,1293	-2,5107
	29,0375	-5,29111*	0,27077	0,000	-6,2602	-4,3220
	32,265	-6,09222*	0,26510	0,000	-7,0442	-5,1402
	Control	-3,89889*	0,31615	0,000	-5,0255	-2,7722
	(+)					
21,51	13,44375	5,33889*	0,30425	0,000	4,2422	6,4356
	16,1325	3,90222*	0,19798	0,000	3,1588	4,6456
	18,82125	1,48556*	0,27617	0,002	0,4995	2,4716
	24,19875	-1,58000*	0,21624	0,000	-2,3634	-0,7966
	26,8875	-2,33444*	0,34519	0,000	-3,5991	-1,0698
	29,0375	-3,80556*	0,24677	0,000	-4,6837	-2,9274
	32,265	-4,60667*	0,24053	0,000	-5,4636	-3,7497
	Control	-2,41333*	0,29585	0,000	-3,4764	-1,3503
	(+)					
24,19875	13,44375	6,91889*	0,27474	0,000	5,8911	7,9467
	16,1325	5,48222*	0,14871	0,000	4,9447	6,0198
	18,82125	3,06556*	0,24328	0,000	2,1702	3,9609
	21,51	1,58000*	0,21624	0,000	0,7966	2,3634
	26,8875	-0,75444	0,31949	0,387	-1,9718	0,4629
	29,0375	-2,22556*	0,20931	0,000	-2,9808	-1,4703
	32,265	-3,02667*	0,20192	0,000	-3,7523	-2,3011
	Control	-0,83333	0,26541	0,126	-1,8217	0,1550
	(+)					
26,8875	13,44375	7,67333*	0,38455	0,000	6,2993	9,0474
	16,1325	6,23667*	0,30742	0,000	5,0307	7,4426
	18,82125	3,82000*	0,36274	0,000	2,5107	5,1293
	21,51	2,33444*	0,34519	0,000	1,0698	3,5991
	24,19875	0,75444	0,31949	0,387	-0,4629	1,9718
	29,0375	-1,47111*	0,34089	0,017	-2,7262	-0,2161
	32,265	-2,27222*	0,33640	0,000	-3,5179	-1,0266
	Control	-0,07889	0,37794	1,000	-1,4324	1,2747
	(+)					
29,0375	13,44375	9,14444*	0,29936	0,000	8,0612	10,2277
	16,1325	7,70778*	0,19039	0,000	6,9965	8,4190
	18,82125	5,29111*	0,27077	0,000	4,3220	6,2602

	21,51	3,80556*	0,24677	0,000	2,9274	4,6837
	24,19875	2,22556*	0,20931	0,000	1,4703	2,9808
	26,8875	1,47111*	0,34089	0,017	0,2161	2,7262
	32,265	-0,80111	0,23431	0,065	-1,6350	0,0328
	Control	1,39222*	0,29082	0,006	,3435	2,4409
	(+)					
32,265	13,44375	9,94556*	0,29424	0,000	8,8756	11,0155
	16,1325	8,50889*	0,18223	0,000	7,8321	9,1857
	18,82125	6,09222*	0,26510	0,000	5,1402	7,0442
	21,51	4,60667*	0,24053	0,000	3,7497	5,4636
	24,19875	3,02667*	0,20192	0,000	2,3011	3,7523
	26,8875	2,27222*	0,33640	0,000	1,0266	3,5179
	29,0375	0,80111	0,23431	0,065	-0,0328	1,6350
	Control	2,19333*	0,28555	0,000	1,1590	3,2277
	(+)					
Control	13,44375	7,75222*	0,34095	0,000	6,5390	8,9655
(+)	16,1325	6,31556*	0,25076	0,000	5,3486	7,2826
	18,82125	3,89889*	0,31615	0,000	2,7722	5,0255
	21,51	2,41333*	0,29585	0,000	1,3503	3,4764
	24,19875	0,83333	0,26541	0,126	-0,1550	1,8217
	26,8875	0,07889	0,37794	1,000	-1,2747	1,4324
	29,0375	-1,39222*	0,29082	0,006	-2,4409	-0,3435
	32,265	-2,19333*	0,28555	0,000	-3,2277	-1,1590

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

Fuente: SPSS versión 27.0

Según la tabla 9, se puede observar las comparaciones múltiples entre cada tratamiento de las concentraciones del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a Sulfametoxazol/Trimetoprima en relación con *Escherichia coli* ATCC 25922.

Las concentraciones 13,44375; 16,1325; 18,82125; 21,51; 29,0375 y 32,265, son estadísticamente significativos con el Sulfametoxazol/Trimetoprima (Control +).

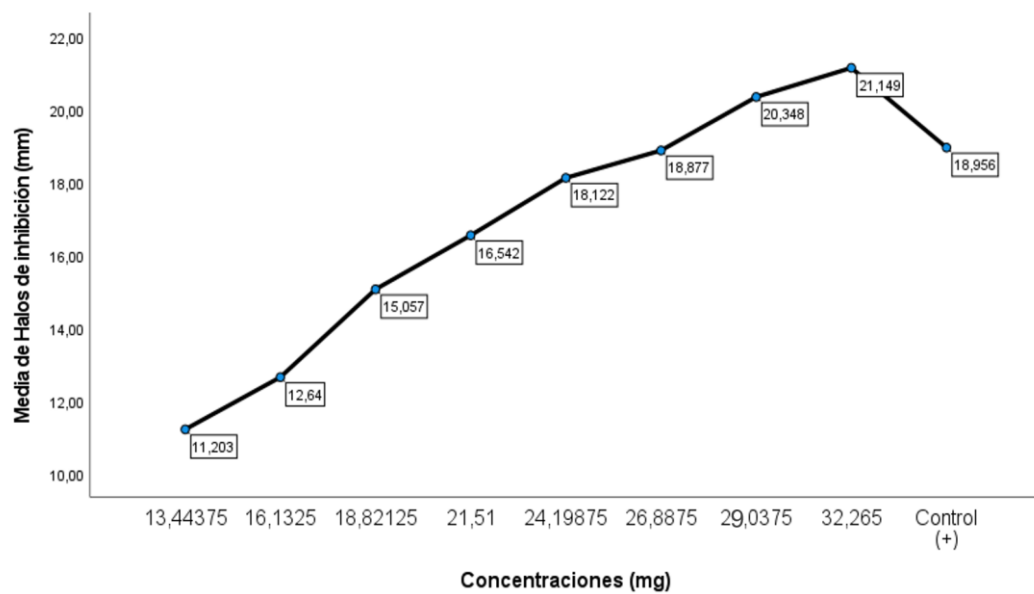


Figura 2. Distribución del promedio de los halos de inhibición en base a las concentraciones del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a la *Escherichia coli* ATCC 25922.

VERIFICACIÓN DE LA PRIMERA HIPÓTESIS ESPECÍFICA

“Existe actividad antibacteriana del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* en relación con *Escherichia coli* ATCC 25922”.

1) Planteamiento de la hipótesis

H₀: No existe actividad antibacteriana del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* en relación con *Escherichia coli* ATCC 25922.

H₁: Existe actividad antibacteriana del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* en relación con *Escherichia coli* ATCC 25922.

2) Nivel de significancia

$\alpha = 5\% = 0,05$

3) Estadístico de prueba

Tabla 10. Diseño completamente al azar (DCA)

ANOVA					
Concentraciones (mg)					
	Suma de		Media		
	cuadrados	gl	cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	803,408	7	114,773	338,754	0,001
Dentro de grupos	21,684	64	0,339		
Total	825,092	71			

Fuente: SPSS versión 27.0.

$$F_c = 338,754 \quad p = 0,001$$

4) Decisión

Como $p\text{-valor}=0,001$ es menor al nivel de significancia $\alpha=0,05$; entonces se rechaza H_0 .

5) Conclusión

Al nivel del 5 % de significancia se concluye que existe actividad antibacteriana del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* en relación con *Escherichia coli* ATCC 25922.

Tabla 11. Prueba de significancia de Games-Howell de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* en relación con *Escherichia coli* ATCC 25922.

Comparaciones múltiples
Variable dependiente:
Games-Howell

(I) Tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
13,44375 16,1325	-1,43667*	0,26061	0,004	-2,4164	-0,4569
18,82125	-3,85333*	0,32402	0,000	-4,9788	-2,7279
21,51	-5,33889*	0,30425	0,000	-6,4058	-4,2719
24,19875	-6,91889*	0,27474	0,000	-7,9179	-5,9198
26,8875	-7,67333*	0,38455	0,000	-9,0104	-6,3362
29,0375	-9,14444*	0,29936	0,000	-10,1983	-8,0906

	32,265	-9,94556*	0,29424	0,000	-10,9863	-8,9048
16,1325	13,44375	1,43667*	0,26061	0,004	0,4569	2,4164
	18,82125	-2,41667*	0,22721	0,000	-3,2593	-1,5740
	21,51	-3,90222*	0,19798	0,000	-4,6248	-3,1797
	24,19875	-5,48222*	0,14871	0,000	-6,0051	-4,9593
	26,8875	-6,23667*	0,30742	0,000	-7,4077	-5,0656
	29,0375	-7,70778*	0,19039	0,000	-8,3992	-7,0164
	32,265	-8,50889*	0,18223	0,000	-9,1669	-7,8509
18,82125	13,44375	3,85333*	0,32402	0,000	2,7279	4,9788
	16,1325	2,41667*	0,22721	0,000	1,5740	3,2593
	21,51	-1,48556*	0,27617	0,001	-2,4451	-0,5260
	24,19875	-3,06556*	0,24328	0,000	-3,9362	-2,1949
	26,8875	-3,82000*	0,36274	0,000	-5,0938	-2,5462
	29,0375	-5,29111*	0,27077	0,000	-6,2341	-4,3481
	32,265	-6,09222*	0,26510	0,000	-7,0185	-5,1660
21,51	13,44375	5,33889*	0,30425	0,000	4,2719	6,4058
	16,1325	3,90222*	0,19798	0,000	3,1797	4,6248
	18,82125	1,48556*	0,27617	0,001	0,5260	2,4451
	24,19875	-1,58000*	0,21624	0,000	-2,3421	-0,8179
	26,8875	-2,33444*	0,34519	0,000	-3,5643	-1,1045
	29,0375	-3,80556*	0,24677	0,000	-4,6602	-2,9509
	32,265	-4,60667*	0,24053	0,000	-5,4406	-3,7727
24,19875	13,44375	6,91889*	0,27474	0,000	5,9198	7,9179
	16,1325	5,48222*	0,14871	0,000	4,9593	6,0051
	18,82125	3,06556*	0,24328	0,000	2,1949	3,9362
	21,51	1,58000*	0,21624	0,000	0,8179	2,3421
	26,8875	-0,75444	0,31949	0,345	-1,9373	0,4284
	29,0375	-2,22556*	0,20931	0,000	-2,9603	-1,4908
	32,265	-3,02667*	0,20192	0,000	-3,7327	-2,3207
26,8875	13,44375	7,67333*	0,38455	0,000	6,3362	9,0104
	16,1325	6,23667*	0,30742	0,000	5,0656	7,4077

	18,82125	3,82000*	0,36274	0,000	2,5462	5,0938
	21,51	2,33444*	0,34519	0,000	1,1045	3,5643
	24,19875	0,75444	0,31949	0,345	-0,4284	1,9373
	29,0375	-1,47111*	0,34089	0,014	-2,6915	-0,2507
	32,265	-2,27222*	0,33640	0,000	-3,4833	-1,0611
29,0375	13,44375	9,14444*	0,29936	0,000	8,0906	10,1983
	16,1325	7,70778*	0,19039	0,000	7,0164	8,3992
	18,82125	5,29111*	0,27077	0,000	4,3481	6,2341
	21,51	3,80556*	0,24677	0,000	2,9509	4,6602
	24,19875	2,22556*	0,20931	0,000	1,4908	2,9603
	26,8875	1,47111*	0,34089	0,014	0,2507	2,6915
	32,265	-0,80111	0,23431	0,054	-1,6127	0,0105
32,265	13,44375	9,94556*	0,29424	0,000	8,9048	10,9863
	16,1325	8,50889*	0,18223	0,000	7,8509	9,1669
	18,82125	6,09222*	0,26510	0,000	5,1660	7,0185
	21,51	4,60667*	0,24053	0,000	3,7727	5,4406
	24,19875	3,02667*	0,20192	0,000	2,3207	3,7327
	26,8875	2,27222*	0,33640	0,000	1,0611	3,4833
	29,0375	0,80111	0,23431	0,054	-0,0105	1,6127

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Fuente: SPSS versión 27.0

Según la tabla 11, se puede observar las comparaciones múltiples entre cada tratamiento de las concentraciones del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* en relación con *Escherichia coli* ATCC 25922.

Se observa que la mayoría de las concentraciones son estadísticamente significativas del 13,44375 al 21,51, evidenciado que en la concentración 24,19875 no es significativo con el 26,8875 y el 29,0375 no es significativo con la concentración 32,265.

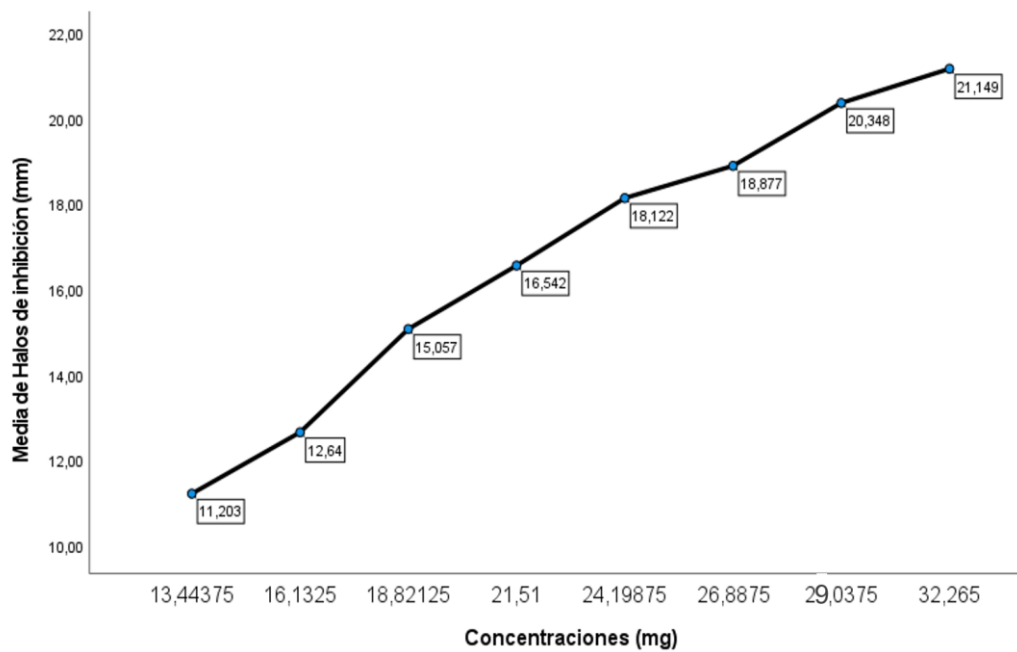


Figura 3. Distribución del promedio de los halos de inhibición en base a las concentraciones del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a la *Escherichia coli* ATCC 25922.

VERIFICACIÓN DE LA SEGUNDA HIPÓTESIS ESPECÍFICA

En la prueba de hipótesis para diferencia de medias poblacionales, lo primero que debe hacerse es comprobar el supuesto de normalidad y la homogeneidad de varianzas, para lo cual seguimos el siguiente procedimiento:

A) Verificar el supuesto de normalidad

1) Planteamiento de la hipótesis

H₀: Los halos de inhibición siguen una distribución normal

H₁: Los halos de inhibición no siguen una distribución normal

2) Nivel de significancia

$$\alpha = 5\% = 0,05$$

3) Estadístico de prueba

Tabla 12. Prueba de normalidad de Kolmogórov-Smirnov (n>50) y Shapiro -Wilk (n≤50).

Tratamientos	Kolmogórov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Concentración 13,44375- 29,0375	0,251	9	0,109	0,849	9	0,072
Concentración 32,265	0,199	9	0,200	0,932	9	0,498

Fuente: SPSS versión 27.0

4) Decisión

Como p-valor= (0,072 y 0,498) son mayores al nivel de significancia $\alpha=0,05$; entonces se acepta H_0 .

5) Conclusión

Al 5 % de significancia, se trabaja con la prueba de Shapiro-Wilk ($n \leq 50$), y se concluye que los halos de inhibición provienen de una distribución normal, luego de efectuar la prueba de normalidad y estas demuestran que los halos de inhibición siguen una distribución de la curva normal, en consecuencia, el estadístico prueba para comprobar las hipótesis deben ser estadísticos paramétricos, es este caso sería la prueba de hipótesis para la diferencia de medias poblacionales.

B) Verificar el supuesto de homogeneidad de varianzas

1) Planteamiento de la hipótesis

$$H_1: \sigma_1^2 = \sigma_2^2$$

$$H_0: \sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$$

2) Nivel de significancia

$$\alpha = 5\% = 0,05$$

3) Estadístico de prueba

$$F_c = 0,789 \quad p = 0,363$$

4) Decisión

Como p-valor= 0,363 es mayor al nivel de significancia $\alpha=0,05$; entonces se acepta H_0 .

5) Conclusión

Al 5 % de significancia, se concluye que la varianza de los halos de inhibición es igual, cumpliendo con el supuesto de homogeneidad.

C) Verificar la hipótesis

1) Planteamiento de la hipótesis

H_0 : No existe diferencia entre el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* y las diferentes concentraciones con *Escherichia coli* ATCC 25922.

H_1 : Existe diferencia entre el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* y las diferentes concentraciones con *Escherichia coli* ATCC 25922.

2) Nivel de significancia

$$\alpha = 5 \% = 0,05$$

3) Estadístico de prueba

Tabla 13. Prueba de hipótesis para diferencia de medias poblacionales

		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
Halo de inhibición de las concentraciones	Se asumen varianzas iguales	0,878	0,363	-25,865	16	0,001	-5,0211	0,19413	-5,43	-4,61
	No se asumen varianzas iguales			-25,865	14,017	0,001	-5,0211	0,19413	-5,44	-4,60

Fuente: SPSS versión 27.0.

4) Decisión

Como $p\text{-valor}=0,001$ es menor al nivel de significancia $\alpha=0,05$; entonces se rechaza H_0 .

5) Conclusión

Al nivel del 5 % de significancia se concluye existe diferencia entre el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* y las diferentes concentraciones con *Escherichia coli* ATCC 25922. Según el intervalo diferencia de medias poblacionales $[-5,43; -4,61]=0,95$, se concluye que la concentración 32,265 es mejor que las concentraciones desde el 13,44375 al 29,0375.

DISCUSIÓN

En la presente investigación titulada Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a Sulfametoxazol/Trimetoprima en relación con *Escherichia coli* ATCC 25922

El aceite esencial de *Syzygium aromaticum* del clavo de olor fue obtenido por medio del método arrastre de vapor donde se obtuvo un rendimiento de 1,8 % aproximadamente con una densidad de 1,0755 g/mL. Estos resultados se asemejan a Mejía E. en el año 2019, donde la densidad fue de 1,16 g/mL y el rendimiento mayor de 6,35 % (24).

Se realizó la determinación de los componentes del aceite esencial del clavo de olor mediante la cromatografía de gases-capa obteniendo 32 componentes de los cuales en mayor proporción el eugenol (70 %), fenol, 2 metoxi - 4 (2-propenil) –acetato (20,57 %) y cariofileno (4,41%) entre otros, ver en anexo 4.

Diyah Y. et al., difiere porque su estudio consiste en el tallo de clavo identificaron alfa-pineno, el hexilenglicol, el betha mirceno, el eucaliptol y el

alfa terpineol (20). Prabandari A., Aprilliana M., difiere en los componentes siendo estas de las hojas de clavo son flavonoides, taninos, saponinas y alcaloides (21). Mejía E., se asemeja a nuestros resultados con los componentes del aceite esencial de clavo terpénicos (eugenol, cariofileno) (24). Ugha, K., Indriarini, D., Koamesah, S., son similares sus componentes del extracto etanólico de hojas de clavo existen flavonoides, taninos y alcaloides, y saponinas (25). Arévalo F., Suarez N., son similares los componentes del extracto etanólico de clavo de olor contiene alcaloides, taninos, Lactonas α , β -insaturadas, flavonoides y azúcares reductores (26). Peve B., Rosales C., se asemejan sus componentes como alcaloides, saponinas, antocianinas, taninos y flavonoides, existencia cuantiosa de compuestos fenólicos (27).

El eugenol se encuentra en mayor proporción, este es un derivado fenólico y tiene propiedades bactericidas a concentraciones altas tiene esta acción se debe a los fenoles que degeneran las proteínas causando daño en la membrana celular, en bajas concentraciones estabiliza las membranas celulares previniendo la penetración de las bacterias, además inhibe el crecimiento de otros organismos fúngicos y patógenos (46).

La determinación de la sensibilidad antibacteriana *in vitro*, se utilizó el método de disco difusión (Kirby – Bauer) se estandarizó el inóculo a escala *Mc Farland* obteniendo $1,5 \times 10^8$ UFC/mL y se procedió a realizar el antibiograma, para ello se tomó en cuenta las pautas de *Duraffourd* y *Lapraz* que consideran que los aceites esenciales tienen un rango de actividad: Nula, sensibilidad límite, sensibilidad media y sumamente sensible.

En la tabla 1 y 2 se muestra los promedios de los halos de inhibición (mm) frente a la *Escherichia coli* ATCC 25922 a diferentes de concentraciones del aceite esencial de *Syzygium aromaticum*, un halo de inhibición promedio de 21,15 mm de la concentración de 32,265 mg y un 11,20 mm de 13,44375 mg.

Diyah Y. et al., obtuvo resultados similares con el extracto de tallo de clavo en concentraciones de 30 %, 50 % y 70 % frente a *Escherichia coli*, con halos de inhibición de 12 mm, 12,7 mm y 14,1 mm, respectivamente (20). Prabandari A., Aprilliana M. también se asemejan las medidas de los halos de inhibición, siendo las concentraciones del extracto de clavo de 5 %, 10 %, 15 %, 20 % y 25 % frente a *Escherichia coli* con el extracto crudo 7,30 mm; 9,99 mm; 12,92 mm; 13,27 mm; 13,93 mm y el extracto purificado es de 9,91 mm; 11,06 mm; 12,00 mm; 12,29 mm; 14,53 mm. Siendo la

concentración de extracto purificado al 25 % mejor contra *Escherichia coli* (21). Ramadhani R., et al., siendo similares sus resultados, en la fracción de acetato de etilo de las hojas el clavo existe la mayor inhibición 17,41 mm *E. coli* y la fracción de n-hexano un 13,61 mm para *E. coli* (23). Mejía E. sus resultados se asemejan, los halos de inhibición del aceite esencial del *Syzygium aromaticum* con un halo de 21 mm, un CMI: 10 mg/mL y CMB: 80 mg/mL (24). Ugha, K., Indriarini, D., Koamesah, S. difiere en los resultados porque trabaja con el extracto etanólico de hojas de clavo con concentraciones de 10 %, 20 %, 40 %, 60 %, 80 %, 100 %; obteniendo un halo de inhibición de 0,63 cm; 0,94 cm; 1,05 cm; 1,18 cm; 1,38 cm y 1,58 cm respectivamente. La CIM es la concentración del 10 % y la concentración de muerte (KBM) es del 100 % (25).

Arévalo F., Suarez N. difiere porque la cepa es *Salmonella* que el extracto etanólico de *Syzygium aromaticum* al 75 % obtuvo un halo de 12,65 mm, 25 % (8,86 mm) y 5 % (7,32 mm) (26). Flores J., García F. difieren en sus resultados, los halos de inhibición obtenidos del aceite de *Syzygium aromaticum* al 100% sobre *Staphylococcus aureus*, obtuvo un 25,87 mm y para el 50% fue de 19,93 mm, para el alcohol en gel de *Syzygium aromaticum* al 15 % un 12,91 mm de halo de inhibición y al 25 % un 16,14 mm (28). Albines W. difieren porque la cepa fue *Streptococcus mutans*, el

efecto antibacteriano del *Syzygium aromaticum* fue un 20,09 mm al 100% (29). Curo M., Gonzáles M. sus resultados son similares, los halos de inhibición del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* L. a diferentes concentraciones del 100 %, 75 % y 50 % sobre *Escherichia coli*, siendo 17,77 mm; 15,96 mm y 13,69 mm respectivamente (30).

En la tabla 10, se muestra la prueba ANOVA con un valor $p=0,001$, demostrando que existe actividad antibacteriana del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* en relación con *Escherichia coli* ATCC 25922.

Diyah Y. et al., se asemeja, utilizo el ANOVA para la diferencia de grupos con un valor menor a 0,05 (20). Ugha, K., Indriarini, D., Koamesah, S. difiere, utilizo la prueba de Kruskal-Wallis con $p = 0,003$, demuestra la diferencia significativa en el diámetro de la zona de inhibición entre grupos (25). Arévalo F., Suarez N. se asemeja utilizo ANOVA con un $p=0,00$ existiendo diferencias entre los grupos (26). Peve B., Rosales C. es similar comprobó estadísticamente con la prueba Anova ($p=0,00$) que el extracto etanólico de *Syzygium aromaticum* L. presenta efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli in vitro* (27). Flores J., García F. se asemeja utilizando ANOVA con un $p=0,00$ los datos presentan diferencias estadísticas (28).

Nuestros resultados demuestran que el aceite esencial de clavo de olor que

tiene efectos antibacterianos con la bacteria *Escherichia coli* que es una bacteria gramnegativa, asimismo con los demás estudios confirman nuestros resultados y también amplían nuestro estudio porque también tiene propiedades bacterianas con las bacterias *Staphylococcus aureus* son bacterias grampositivas, y otras bacterias. Siendo la diferencia la estructura de la pared celular de las bacterias gramnegativas poseen una delgada capa de peptidoglicano, y se dañan fácilmente, mientras que las bacterias grampositivas, su capa de peptidoglicano es más gruesa y rígida, y es más resistente a los agentes antibacterianos o antibióticos (21).

CONCLUSIONES

- Primero:** Se determinó que existe diferencia entre el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a Sulfametoxazol/Trimetoprima en relación con *Escherichia coli* ATCC 25922, ya que su significancia es menor al 0,05, es decir que en el tratamiento 9 (concentración 32,265) presenta mayor actividad antibacteriana frente al Sulfametoxazol/Trimetoprima (control +).
- Segundo:** Se determinó que existe actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, ya que su significancia es menor al 0,05, es decir, presenta un grado de sensibilidad sumamente sensible las concentraciones 29,0375 (20,35 mm) y 32,265 (21,15 mm).
- Tercer:** Se determinó que existe diferencia entre la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* en sus diferentes concentraciones frente a *Escherichia coli* ATCC 25922. Se concluye que la concentración 32,265 presenta una mayor actividad con un

halo de inhibición de 21,15 mm, con respecto a las demás concentraciones desde el 13,44375 (11,20 mm) al 29,0375 (20,35 mm).

Cuarta: Se determinó que el grado de sensibilidad de acuerdo a los promedios de inhibición según la escala de Duraffourd, la Sulfametoxazol/Trimetoprima con una concentración de 25 ug, presenta un grado de sensibilidad sumamente sensible (una repetición) y las demás repeticiones nos dan un grado de sensibilidad muy sensible, con un halo de sensibilidad promedio de 18,96 mm.

RECOMENDACIONES

- Primero:** Realizar estudios comparativos del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* y sus principios activos frente a otros antibióticos, así como otras bacterias resistentes y de importancia hospitalaria.
- Segundo:** Realizar experimentos in vivo para evaluar la toxicidad que pueden aportar los principios activos de *Syzygium aromaticum* y puedan ayudar a determinar las dosis terapéuticas y tóxicas, a fin de garantizar su seguridad.
- Tercer:** Realizar estudios para la formulación y validación de formas farmacéuticas que contengan poca cantidad de insumos sintéticos en base al aceite esencial de *Syzygium aromaticum* como alternativa frente a enfermedades producidos por *Escherichia coli*.
- Cuarto:** A los directivos de la universidad gestionar la implementación de los laboratorios, y recursos financieros necesarios para la sostenibilidad de los mismos, apoyando el desarrollo de investigaciones *in vitro* e *in vivo*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Donayre A. Prevalencia y características clínicas de la enfermedad diarreica aguda en pacientes pediátricos de 1 a 5 años de edad atendidos en el Hospital Santa María del Socorro, de abril a septiembre 2022. [Tesis pregrado] Ica: Universidad Nacional San Luis Gonzaga, 2022. Disponible en: <https://repositorio.unica.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13028/4482/Prevalencia%20y%20caracter%20adsticas%20cl%20adnicas%20de%20la%20enfermedad%20diarreica%20aguda%20en%20pacientes%20pedi%20a%20tricos%20de%201%20a%205%20a%20%20de%20edad%20atendidos%20en%20el%20Hospital%20Santa%20Mar%20ada%20del%20Socorro%20de%20abril%20a%20septiembre%20del%202022.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
2. Hilarión G. Susceptibilidad antimicrobiana de cepas *Escherichia coli* O157:H7 y *Escherichia coli* Enteropatógena aisladas en niños menores de cinco años con diarrea. [Tesis pregrado] Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia, 2020. Disponible en:
3. OMS. *E. coli*. Publicado 7 de febrero de 2018. Disponible en <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
4. Organización Panamericana de la Salud. Tratamiento de las enfermedades infecciosas 2020-2022. Octava edición. Washington,

D.C.: OPS; 2019. Disponible en:
https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51695/9789275321133_spa.pdf

5. OMS. Cumbre Mundial de OMS sobre Medicina Tradicional destaca evidencias científicas e integración a los sistemas de salud. 28 Ago 2023. Disponible en: <https://www.paho.org/es/noticias/28-8-2023-cumbre-mundial-oms-sobre-medicina-tradicional-destaca-evidencias-cientificas>
6. Shehabeldine A., et al. Antimicrobial, Antibiofilm, and Anticancer Activities of *Syzygium Aromaticum* Essential Oil Nanoemulsion. *Molecules*. 2023; 28(15):5812. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/molecules28155812>
7. González NV, Fernández EQ. Presencia de *Escherichia coli* en alimentos y relevancia nutricional.
8. Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades MINSA. Boletín Epidemiológico del Perú. Volumen 26 - SE 13. [Internet]. [citado 21 de junio de 2023]. Disponible en: <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2017/13.pdf>
9. Montenegro-Díaz B, Tafur-Ramirez R, Díaz-Vélez C, Fernández-Mogollon J. Infecciones intrahospitalarias del tracto urinario en servicios críticos de un hospital público de Chiclayo, Perú (2009-

- 2014). Acta Médica Peru. julio de 2016;33(3):189-94.
10. Calle Núñez A, Colqui Campos KA, Rivera Estrella DA, Cieza Zevallos JA. Factores asociados a la presentación de infecciones urinarias por *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido. Rev Medica Hered. julio de 2017;28(3):142-9.
 11. OMS. Enfermedades diarreicas. 2 de mayo de 2017. [Internet]. [citado 21 de junio de 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>
 12. Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades – MINSA. Boletín Epidemiológico del Perú. Volumen 32 - SE 39 Semana Epidemiológica (del 24 al 30 de setiembre del 2023) disponible en: https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/boletin/boletin_2023_24_084314.pdf
 13. Hilarión G. Susceptibilidad antimicrobiana de cepas *Escherichia coli* O157:H7 y *Escherichia coli* Enteropatógena aisladas en niños menores de cinco años con diarrea. [Tesis pregrado] Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia, 2020. Disponible en:
 14. David EHO. Usos tradicionales de las plantas de la Orinoquia colombiana. UGCiencia. 27 de enero de 2015;21:16-37.
 15. Plan_Nacional_de_lucha_contra_la_resistencia_a_los_antimicrobian

os_2018_2021.pdf [Internet]. [citado 21 de junio de 2023]. Disponible en: https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/plan-nacional/Plan_Nacional_de_lucha_contra_la_resistencia_a_los_anti_microbianos_2018_2021.pdf

16. Ruiz-Roldán L., et al. Presencia de *Enterobacteriaceae* y *Escherichia coli* multirresistente a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2018;35(3):425-32. DOI: 10.17843/rpmesp.2018.353.3737. Disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/3737/3101>
17. Valdez Y. Sensibilidad antibiótica en uropatógenos en pacientes atendidos en un Hospital Público 2020. [Tesis pregrado] Universidad San Pedro, Perú, 2021. Disponible en: http://repositorio.usanpedro.edu.pe/bitstream/handle/20.500.129076/21051/Tesis_72928.pdf?sequence=1&isAllowed=y
18. OMS. La OMS convoca la primera cumbre mundial de alto nivel sobre medicina tradicional para examinar los datos disponibles e impulsar la atención de salud para todos. 10 de agosto de 2023. [Internet]. [citado 06 de setiembre de 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/10-08-2023-who-convenes-first-high-level-global-summit-on-traditional-medicine-to-explore->

evidence-base--opportunities-to-accelerate-health-for-all

19. Pereira P. UNIVERSIDAD DE CARABOBO.
20. Diyah Y. et al. The identification of antibacterial compounds in clove stem extract (*Syzygium aromaticum*) and its effectiveness in inhibiting the growth of *Escherichia coli*. JBIO: Jurnal Biosains Vol. 8 No. 1. March 2022 Disponible en: DOI: <https://doi.org/10.24114/jbio.v8i1.28089>
21. Prabandari A., Aprilliana M. Aktivitas antibakteri ekstrak kasar dan terpurifikasi daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Indonesia. Borobudur Pharmacy Review. Vol. 2 No. 1 (2022) pp. 8-14e-ISSN: 2798-3552. Disponible en: DOI: <https://doi.org/10.31603/bphr.v2i1.6934>
22. Rodríguez L. Susceptibilidad antimicrobiana a trimetoprima/sulfametoxazol por concentración mínima inhibitoria en aislamientos clínicos de bacilos entéricos provenientes de cavidad oral. [Tesis pregrado] Universidad El Bosque: Colombia, 2022.
23. Ramadhani R., et al. Efek antibakteri ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia. Volume 7 Nomor 2 Desember 2020. Disponible en: <https://www.researchgate.net/profile/Sogandi-Sogandi->

2/publication/348841901_EFEK_ANTIBAKTERI_EKSTRAK_DAUN_CENGKEH_Syzygium_aromaticum_TERHADAP_Escherichia_coli_DAN_Staphylococcus_aureus/links/625d157a9be52845a90c2015/EFEK-ANTIBAKTERI-EKSTRAK-DAUN-CENGKEH-Syzygium-aromaticum-TERHADAP-Escherichia-coli-DAN-Staphylococcus-aureus.pdf?_sg%5B0%5D=started_experiment_milestone&origin=journalDetail

24. Mejía E. "Análisis de la resistencia en *Escherichia coli* BLEE positiva, codificada por blaTEM-20, blaSHV-2 y del efecto inhibidor del extracto metanólico de *Ruta chalepensis* L. y un aceite esencial de *Syzygium aromaticum* L." [Tesis magíster]. México: Universidad Autónoma del Estado de México; 2019. Disponible en: <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/98828>
25. Ugha, K., Indriarini, D., Koamesah, S. (2019). Uji aktivitas anti bakteri ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* secara in-vitro. *Cendana Medical Journal*, 7(2), 149-157. Disponible en: <https://doi.org/10.35508/cmj.v7i2.1779>
26. Arévalo F., Suarez N. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de los botones florales de *Syzygium aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) sobre *Salmonella entérica subespecie*

- entérica* ATCC 51741. [Tesis pregrado]. Perú: Universidad María Auxiliadora; 2022. Disponible en: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/1237>
27. Peve B., Rosales C. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Syzygium aromaticum* L. (clavo de olor) sobre *Escherichia coli* ATCC 25922. [Tesis pregrado]. Perú: Universidad María Auxiliadora; 2022. Disponible en: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/1113>.
28. Flores J., García F. Actividad antibacteriana del alcohol en gel a base de aceite esencial de *Syzygium aromaticum* (clavo de olor) frente a *Staphylococcus aureus*. [Tesis pregrado]. Perú: Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt; 2021. Disponible en: <https://repositorio.uoosevelt.edu.pe/handle/20.500.14140/533>
29. Albines W. Efecto antibacteriano in vitro del *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” y *origanum vulgare* “orégano” frente a *Streptococcus mutans* atcc 2517. [Tesis pregrado]. Perú: Universidad Privada Antenor Orrego; 2020. Disponible en: <http://repositorio.upao.edu.pe/handle/20.500.12759/5990>
30. Curo M., Gonzáles M. realizaron su estudio titulado “*Comparación de la actividad anti Escherichia coli atcc 25922 de los aceites esenciales de Melissa officinalis L. (toronjil) y Syzygium aromaticum L. (clavo de*

- olor) para el desarrollo de una formulación de emulsión bebible” [Tesis pregrado]. Perú: Universidad María Auxiliadora; 2020. Disponible en: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/372>*
31. Agustín M., White L. El clavo de olor, un viejo conocido. Universidad Autónoma del Estado de México. Revista universitaria año 4.num. 27, octubre 2020. Disponible en: https://www.uaemex.mx/images/Documentos/revista/RU_octubre.pdf#page=28
 32. Moran G. Sicha D. Tasayco N. Efecto antifúngico in vitro del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) frente a *Cándida albicans* ATCC 10231. [Tesis pregrado]. Lima: Universidad Interamericana para el desarrollo, 2018. Disponible en: <http://repositorio.unid.edu.pe/bitstream/handle/unid/12/4%20Clavo%20Olor%20-%20Candida%20albicans.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
 33. Martínez A. Aceites Esenciales. Universidad de Antioquia. Medellín, febrero 2003. Disponible en: https://med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf
 34. J. N. Haro-González, G. A. Castillo-Herrera, M. Martínez-Velázquez, and H. Espinosa-Andrews, 'Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. *Myrtaceae*): Extraction, Chemical Composition, Food Applications,

- and Essential Bioactivity for Human Health', *Molecules*, vol. 26, no. 21, p. 6387, Oct. 2021, doi: 10.3390/molecules26216387.
35. Y. Shahbazi, 'Antioxidant, antibacterial, and antifungal properties of nanoemulsion of clove essential oil', *Nanomedicine Research Journal*, vol. 4, no. 4, pp. 204–208, 2019, doi: 10.22034/nmrj.2019.04.001.
 36. Bush L. Vazquez M. Infecciones por *Escherichia coli* (*E. coli*). Manual Merck versión para profesionales. Revisado/Modificado abr 2022. Disponible en: <https://www.merckmanuals.com/es-us/professional/enfermedades-infecciosas/bacilos-gramnegativos/infecciones-por-escherichia-coli?query=e.%20coli>
 37. *Escherichia coli*. En: Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. 2023 [citado 30 de septiembre de 2023]. Disponible en: https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Escherichia_coli&oldid=151556050
 38. Ministerio de salud de Argentina. Guía de Medicamentos Esenciales en el PNA - Grupo Antimicrobianos. Primera edición 2017. Disponible en: <https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2020-06/guia-de-medicamentos-esenciales-para-el-pna-antimicrobianos-2017.pdf>
 39. CIMA. AEMPS. Ficha técnica trimetoprima-sulfametoxazol disponible en: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/48671/48671_ft.pdf
 40. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba

de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco Difusión /
Elaboración: Rosa Sacsquispe Contreras y Jorge Velásquez Pomar.
-- Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud,
2002. disponible en:

41. Investigación de los aceites esenciales, sus características y finalidad de uso. [Internet]. [citado 1 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://www.quimica.es/search/?q=Halo+de+inhibici%C3%B3n>
42. In_vitro [Internet]. [citado 1 de octubre de 2023]. Disponible en: https://www.quimica.es/enciclopedia/In_vitro.html
43. [citado 1 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://www.quimica.es/search/?q=M%C3%A9todo+de+Kirby+-+bauer>
44. Carrasco Díaz S. Metodología de la investigación científica. Primera edición. Editorial San Marcos. Lima, 2005.
45. Hernández Sampieri R. Fernández C. Baptista M. Metodología de la investigación. Sexta edición McGRAW-HILL / Interamericana Editores. 2014, México.
46. Pérez G. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. Rev Cubana Invest Bioméd v.22 n.1 Ciudad de la Habana ene.-mar. 2003. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-3002003000100007&script=sci_arttext

ANEXOS

ANEXO 1. Matriz de consistencia

COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO <i>in vitro</i> DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Syzygium aromaticum</i> FRENTE A SULFAMETOXAZOL/TRIMETOPRIMA EN RELACIÓN CON <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.”					
FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA	TÉCNICAS / INSTRUMENTOS
<p>Problema Principal ¿Existe diferencia entre el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> frente a Sulfametoxazol/Trimetoprima en relación con <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?</p>	<p>Objetivo General Comparar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> frente a Sulfametoxazol/Trimetoprima en relación con <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.</p>	<p>Hipótesis General Existe diferencia entre el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> frente a Sulfametoxazol/Trimetoprima en relación con <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.</p>	<p>Variable 1 Actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i></p>	<p>El tipo de investigación es aplicada, diseño no experimental. Se considera el diseño no experimental transversal, correlacional, cuantitativo y comparativa.</p> <p>Población: Cultivos de <i>Escherichia coli</i> realizado “<i>in vitro</i>”.</p>	<p>Técnica: Observación</p> <p>Técnicas estadísticas: Estadística descriptiva: Tablas figuras, medidas de tendencia central promedio. Estadística inferencial ANOVA y Levene.</p>
<p>Problemas Específicos ¿Cuál será la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922? ¿Cuáles serán las diferencias de la actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> en sus diferentes concentraciones frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922? ¿Cuál será la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> de la Sulfametoxazol/Trimetoprima frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?</p>	<p>Objetivos Específicos Determinar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922. Comparar la actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> en sus diferentes concentraciones frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922. Determinar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> de la Sulfametoxazol/Trimetoprima frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.</p>	<p>Hipótesis Específicas Existe actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922. Existe diferencia de la actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> en sus diferentes concentraciones frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922. Presenta actividad antibacteriana <i>in vitro</i> de la Sulfametoxazol/Trimetoprima frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.</p>	<p>Variable 2 Actividad antibacteriana de la Sulfametoxazol/Trimetoprima.</p> <p>Variable 3 Crecimiento bacteriano <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.</p>		

ANEXO 2. Instrumento

Ficha de recolección de datos para medir el tamaño de los halos de inhibición en mm del *Escherichia coli* ATCC 25922 frente aceite esencial de *Syzygium aromaticum* (Clavo de olor).

Microorganismo <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.												
N ° de Tratamientos	Aceite esencial		Repeticiones									Promedio
	Concentración	Volumen	Halo de inhibición									
	(mg)	(uL)	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	
T-1												
T-2												
T-3												
T-4												
T-5												
T-6												
T-7												
T-8												
T-9												
T-10												
Control (-)												
Control (+)												

CONTROL	
SULFAMETOXAZOL/TRIMETOPRIMA	

ANEXO 3. Identificación de la especie Botánica



HERBARIO TAKANA (TKA)

Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann
Facultad de Ciencias
Ciudad Universitaria - Av. Miraflores s/n, Tacna - Perú



“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

Constancia N° 006 – TKA- 2023

EL DIRECTOR DEL HERBARIO TAKANA (TKA) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra alcanzada a este despacho por **Mary Yesenia Pari Paccari**, identificado con DNI N° 45624748, con domicilio legal en Ciudad Nueva Mz 202 Lte 07 Ct. 31; estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna, cuya determinación taxonómica servirá para la realización del proyecto de Tesis: “Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a sulfametoxazol/Trimetoprima en relación con *Escherichia coli* ATCC 25922”, ha sido estudiada y clasificada como: *Syzygium aromaticum* y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION MAGNOLIOPHYTA

CLASE MAGNOLIOPSIDA

ORDEN MYRTALES

FAMILIA MYRTACEAE

GENERO *Syzygium*

ESPECIE *Syzygium aromaticum*

Nombre vulgar: Clavo de olor

Determinado por: Bach. Cs. Biol. Javier Máximo Ignacio Apaza

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Tacna, 19 de abril del 2023



Dr. PABLO JUAN FRANCO LEON
Director del Herbario (TKA)

cc: Herbario TKA

ANEXO 4. Cromatografía de Gases del Aceite esencial de *Syzygium aromaticum*



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
 FACULTAD DE CIENCIAS
 LABORATORIO DE CROMATOGRÁFIA Y ESPECTROMETRÍA – Pabellón de Control de Calidad
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 97368855

RESULTADOS

Cusco, 30 de Diciembre del 2022⁵⁶

Solicitante : Mary Yesenia Pari Paccari
 Tipo de Análisis : Perfil de Compuestos orgánicos en aceite esencial
 Método : Cromatografía de Gases GC-MSD.
 Cantidad y tipo de Muestra : 1 frascos con contenido liquido denominado aceite esencial de Clavo de olor con 1.5 ml aprox.

Pico	TR	Compuestos orgánicos volátiles (VOC) Librería Nist 11	CAS	Qual	Contenido Relativo %
1	6.06	2-Heptanone	000110-43-0	90	0.02
2	7.31	alpha-Pinene	000080-56-8	91	0.01
3	8.50	Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S)-	018172-67-3	97	0.02
4	9.55	1,3-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	000099-86-5	96	0.02
5	9.77	o-Cymene	000527-84-4	70	0.01
6	10.08	2-Heptanol, acetate	005921-82-4	74	0.05
7	10.35	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (Z)-	003338-55-4	94	0.02
8	11.63	2-Nonanone	000821-55-6	97	0.04
9	13.52	6-Octenal, 3,7-dimethyl-, (R)-	002385-77-5	94	0.03
10	13.89	Acetic acid, phenylmethyl ester	000140-11-4	98	0.02
11	14.15	Benzoic acid, ethyl ester	000093-89-0	93	0.02
12	14.44	Terpinen-4-ol	000562-74-3	95	0.02
13	14.95	Methyl salicylate	000119-36-8	97	0.13
14	15.71	6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, (R)	001117-61-9	98	0.13
15	16.45	Phenol, 4-(2-propenyl)	000501-92-8	95	0.41
16	17.05	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)	000141-27-5	76	0.01
17	17.21	Cinnamaldehyde, (E)	014371-10-9	97	0.05
18	19.30	Phenol, 4-(2-propenyl)-, acetate	061499-22-7	93	0.04
19	19.54	alpha-Cubebene	017699-14-8	96	0.03
20	19.93	Eugenol	000097-53-0	98	71.86
21	20.41	alpha-Cubebene	017699-14-8	93	0.10
22	21.70	Caryophyllene	000087-44-5	99	4.41
23	22.01	Acetic acid, cinnamyl ester	000103-54-8	97	0.10
24	22.61	Humulene	006753-98-6	98	0.58
25	23.63	alpha-Farnesene	000502-61-4	86	0.03
26	24.26	Phenol, 2-methoxy-4-(2-propenyl)-, acetate	000093-28-7	97	20.57
27	26.06	Caryophyllene oxide	001139-30-6	98	0.43
28	27.32	Naphthalene, 1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-	000483-75-0	89	0.15
29	27.68	alpha-Cadinol	000481-34-5	91	0.07
30	28.44	2',3',4' Trimethoxyacetophenone	013909-73-4	80	0.22
31	30.20	Benzyl Benzoate	000120-51-4	98	0.09
32	30.90	Dihydrocoumarin, 4,4,5,7,8-pentamethyl	039170-97-3	70	0.13

Qual = Porcentaje de coincidencia con la base de datos Nist 11 (se reporta mayores al 70%)

CAS = Numero para identificar la molécula

TR = Tiempo de Retención, tiempo al cual son detectados (ver cromatograma)



[Handwritten Signature]

Quilico, Jorge Chiquenaira Pari
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y
 Espectrometría – UNSAAC.
 CQP - 914

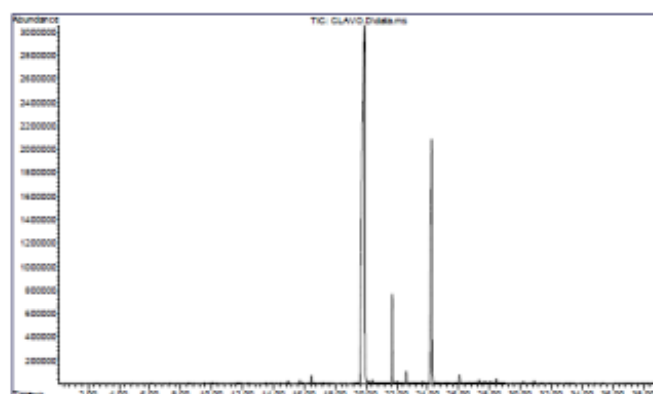
ANEXO 5. Cromatografía en Capa fina del Aceite esencial de *Syzygium aromaticum*



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS
LABORATORIO DE CROMATOGRAFÍA Y ESPECTROMETRÍA – Pabellón de Control de Calidad
AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 97386855

RESULTADOS

Cromatograma



Condiciones de análisis para Aceite esencial
Cromatógrafo: Agilent 6890N
Software de Control: Chemstation B.030
Detector de Masas: Agilent 5975B
Energía de Ionización: 70eV
Modo de Ionización: Impacto Electrónico (IE)
Modo de escaneo de masas: 40 a 400 uma
Retraso del disolvente: 0.0 minutos
Inyector Automático: Agilent 7683B

Columna: Agilent HP-5MS 5% Fenil Metil Siloxano 30m x 0.25id x 0.5um film

Temperatura del Horno inicial 60 °C, incremento de 5 °C/minuto hasta 230 °C, 5 min 230 °C

Puerto de Inyección
Modo : Split (con división)
Relación de Split : 70:1
Temp. Inicial : 200 °C
Tipo de Gas : Helio
Flujo : 1 mL/min
Volumen de Inyección : 0.1 uL
Muestra inyecta : Puro
Tiempo de Análisis : 39.0 min

Referencia

- Pino Alea, J. A. I Curso Internacional Análisis de Aceites Esenciales Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco 2014.
- Lynam, K. 2014 Potential Allergens in Aromatherapy Oils by GC/MS Using an Agilent J&W DB-XLB Capillary Column Agilent Technologies, Inc. 2850 Centerville Road Wilmington, DE 19808 USA 5990-5293EN



Químico, Jorge Choquenaira Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría – UNSAAC.
CQP - 914

ANEXO 6. Antibióticos y diámetros críticos para Enterobacterias

Tabla 6. Antibióticos y Diámetros Críticos para Enterobacterias

ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DEL DISCO	DIAMETRO EN mm		
		R	I	S
PENICILINAS				
Ampicilina	10 µg	£ 13	14-16	³ 17
CEFALOSPORINAS				
Cefalotina	30 µg	£ 14	15-17	³ 18
Cefuroxima axetil (oral)	30 µg	£ 14	15-22	³ 23
Cefuroxima sodium (parenteral)	30 µg	£ 14	15-17	³ 18
Cefoxitina	30 µg	£ 14	15-17	³ 18
Cefotaxima	30 µg	£ 14	15-22	³ 23
Ceftriaxona	30 µg	£ 13	14-20	³ 21
Ceftazidima	30 µg	£ 14	15-17	³ 18
Cefixima	5 µg	£ 15	16-18	³ 19
Cefpirome *	30 µg	£ 14	15-17	³ 18
Cefepime	30 µg	£ 14	15-17	³ 18
β LACTAMICO/ INHIBIDOR DE BETALACTAMASA				
Ampicilina/Sulbactam	10/10 µg	£ 11	12-14	³ 15
Amoxicilina/Ácido Clavulánico	20/10 µg	£ 13	14-17	³ 18
Cefoperazona/sulbactam +	75 µg/30 µg	£ 15	16-20	³ 21
MONOBACTAMS				
Aztreonam	30 µg	£ 15	16-21	³ 22
CARBAPENEMS				
Imipenem	10 µg	£ 13	14-15	³ 16
Meropenem	10 µg	£ 13	14-15	³ 16
AMINOGLUCOSIDOS				
Gentamicina	10 µg	£ 12	13-14	³ 15
Amikacina	30 µg	£ 14	15-16	³ 17
QUINOLONAS				
Acido nalidixico	30 µg	£ 13	14-18	³ 19
Norfloxacina	10 µg	£ 12	13-16	³ 17
Ciprofloxacina	5 µg	£ 15	16-20	³ 21
Ofloxacina	5 µg	£ 12	13-15	³ 16
TETRACICLINA				
Tetraciclina	30 µg	£ 14	15-18	³ 19
OTROS				
Cloramfenicol	30 µg	£ 12	13-17	³ 18
Trimetoprim/sulfametoxazol	1,25/23,75µg	£ 10	11-15	³ 16

* Diámetros críticos adaptados del CFA – SFM, 2000 – 2001.

+ Adaptado a partir de los diámetros críticos de la Cefoperazona según el NCCLS 2001

ANEXO 7. Evidencias fotográficas

Extracción del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* (clavo de olor)



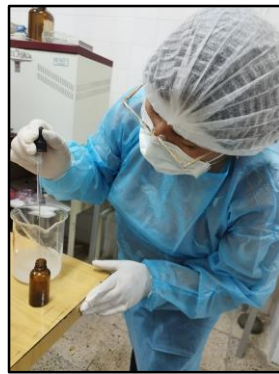
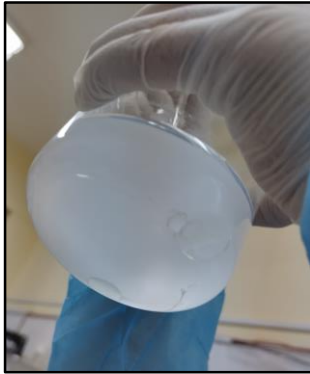
Botones florales de Clavo de olor *Syzygium aromaticum*.



Se peso 250 gr de los botones de Clavo de olor, se vierte al balón y se agrega agua hasta la mitad del balón para la extracción durante 6 horas.



Equipo de Extracción del aceite esencial de botones florales de clavo de olor *Syzygium aromaticum* por el Método de arrastre del vapor.



Aceite esencial de Clavo de olor se obtuvo una cantidad de 4.4 ml reservándose en un frasco estéril color ámbar.

Activación de las cepas bacterianas *Escherichia coli* ATCC 25922

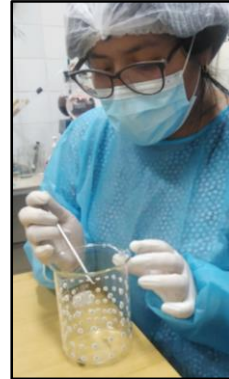


Agente biológico *Escherichia coli* ATCC 25922 proporcionado por el laboratorio de microbiología general de la ESBM-FACI al alcanzando una suspensión de 0.5 de la escala de Mac Farland..

Preparación de los discos de sensibilidad



discos de sensibilidad Sulfametoxazol/Trimetoprima (SXT) 25 µg
Lote:3485282; Marca:OXOID

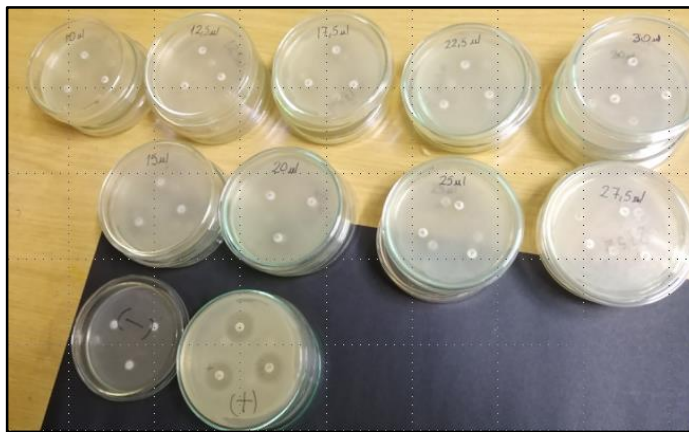


Desnaturalización de los discos a calor húmedo (autoclave) y luego a calor seco (horno de esterilización).

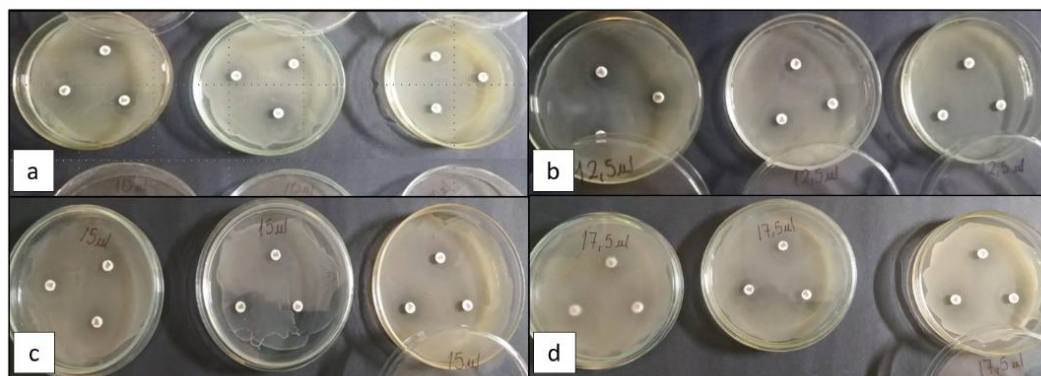
Método discos de difusión de kirby Bauer



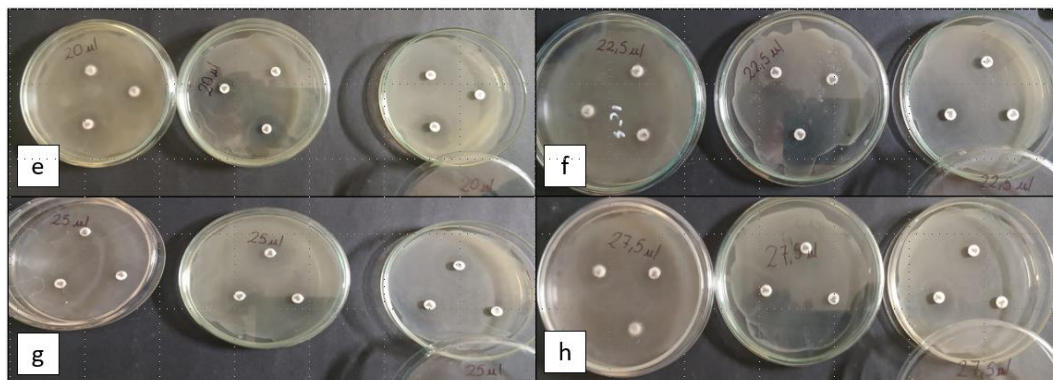
Aplicación del Método disco difusión en agar Mueller Hinton a diferentes volúmenes (10 μ L, 12.5 μ L, 15 μ L, 17.5 μ L, 20 μ L, 22.5 μ L, 25 μ L, 27.5 μ L, 30 μ L) del Aceite esencial de Clavo de olor *Syzygium aromaticum* con 9 repeticiones.



Lectura de los halos de inhibición del aceite esencial *Syzygium aromaticum* frente al *Escherichia coli* ATCC 25922 por el método difusión en disco (Kirby Bauer).



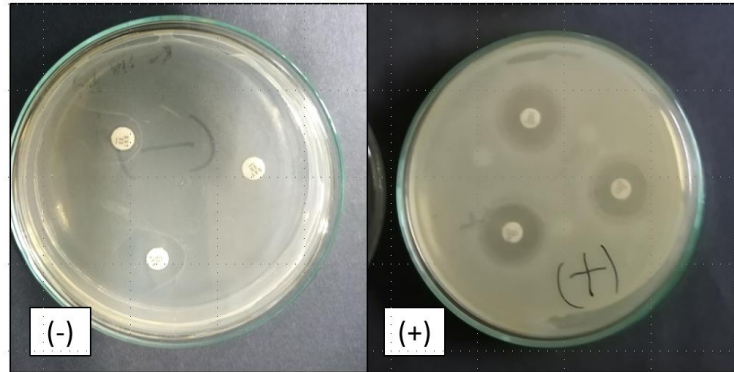
- a) Halos de inhibición a 10 μL (10,755 mg/mL)
- b) Halos de inhibición a 12,5 μL (13,44375 mg/mL)
- c) Halos de inhibición a 15 μL (16,1325 mg/mL)
- d) Halos de inhibición a 17,5 μL (18,82125 mg/mL)



- e) Halos de inhibición a 20 μ L (21,51 mg/mL)
- f) Halos de inhibición a 22,5 μ L (24,19875 mg/mL)
- g) Halos de inhibición a 25 μ L (26,8875 mg/mL)
- h) Halos de inhibición a 27.5 μ L (29,0375 mg/mL)



- i) Halos de inhibición a 30 μ L (32,265 mg/mL)



j) Control negativo (-) y control positivo (+)

Cuadro de las mediciones de los halos de inhibición de los diferentes volúmenes con sus 9 repeticiones.

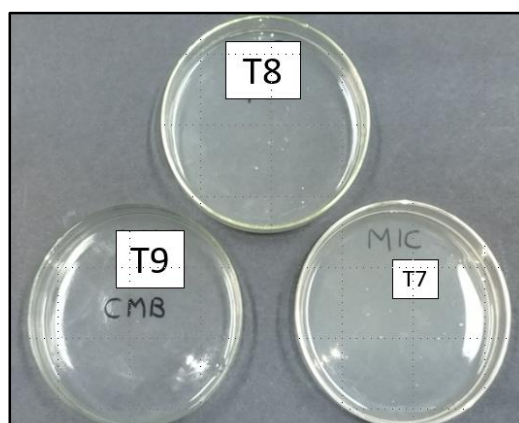
N ° de Tratamientos	Aceite esencial		Repeticiones									Promedio
	Concentración (mg)	Volumen (uL)	Halo de inhibición									
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	
T-1	10,755	10	<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6
T-2	13,44375	12,5	12,58	11,84	10,23	11,81	10,67	10,72	10,75	11,04	11,19	11,20
T-3	16,1325	15	12,29	12,69	12,41	12,82	12,89	12,63	13,06	12,37	12,6	12,64
T-4	18,82125	17,5	16,07	15,95	15,16	14,99	14,91	14,03	14,97	14,85	14,58	15,06
T-5	21,51	20	17,18	16,07	15,74	17,02	16,18	16,04	16,77	16,79	17,09	16,54
T-6	24,19875	22,5	18,77	17,96	18,11	18,37	18,46	18,12	17,6	17,73	17,98	18,12
T-7	26,8875	25	19,75	19,78	20,38	17,97	17,93	18,16	18,65	18,78	18,49	18,88
T-8	29,0375	27,5	21,03	21,16	20,75	20,04	19,73	20,18	19,85	20,19	20,2	20,35
T-9	32,265	30	21,35	21,71	21,79	21,26	21,22	20,91	20,17	20,98	20,95	21,15
T-10												
Control (-)			<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6
Control (+)			19,36	18,74	18,22	18,75	17,87	18,54	19,54	20,04	19,54	18,96

Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* para *Escherichia coli* ATCC 25922 con sus respectivos controles.



Se observó que Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) se encuentra en el tubo 7.

Determinación de Concentración Mínima Bactericida (CMB)



Se determinó que la Concentración Mínima Bactericida (CMB) se encuentra en el Tubo 9.